BAND 39, HEFT 2 AUGUST 1960

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. N. Hiratsuka, Tokyo / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen / Prof. Dr. T. S. Sadasivan, Madras / Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest Prof. Dr. K. Silberschmidt, São Paulo / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 35 Abbildungen

1960

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 39 **Heft 2** *S. 101—196 Berlin 1960*

Postverlagsort Berlin

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE 9 SEP 1960

INHALT

Abhandlungen

TENERINI, I., e N. LOPRIENO, Ricerche istologiche sulle zone di insediamento del *Cycloconium oleaginum* Cast., agente dell' „occhio di pavone" dell' olivo. Con 16 figure 101

BERCKS, R., Serologische Untersuchungen zur Differenzierung von Isolaten des *Phaseolus*-Virus 2 und ihrer Verwandtschaft mit *Phaseolus*-Virus 1. Mit 2 Abb. 120

LOVREKOVICH, L., and Z. KLEMENT, Triphenyltetrazolium chloride tolerance of phytopathogenic bacteria. With 2 figures 129

TOMIYAMA, K., Some factors affecting the death of hypersensitive potato plant cells infected by *Phytophthora infestans*. With 9 figures 134

GRÜNZEL, H., Studien zur biologischen Differenzierung des Falschen Mehltaues der Weinreben (*Peronospora viticola* de Bary). Mit 6 Abb. 149

Besprechungen 195

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19. Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Vorbehalt aller Rechte, insbesondere auch der photomechanischen Vervielfältigung: Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. Gewerblichen Unternehmen wird die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung von Beiträgen oder Beitragsteilen für den innerbetrieblichen Gebrauch durch Photokopie, Mikrokopie und dergleichen, nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958, gegen Bezahlung der dort vorgesehenen Gebühr bis zu 3 Exemplaren gestattet. Die Vervielfältigungen haben einen Vermerk über die Quelle und den Vervielfältiger zu tragen. Die in dem Rahmenabkommen vorgesehene Gebühr ist an die Inkassostelle für Photokopiergebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt/M., Gr. Hirschgraben 17-19, zu entrichten. Erfolgt die Entrichtung der Gebühren durch Wertmarken der Inkassostelle, so ist für jedes Photokopierblatt eine Marke im Werte von DM 0,30 zu verwenden. Mit der Überlassung des Manuskriptes überträgt der Verfasser dem Verlag das Recht zu dieser Genehmigung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jedes Heft enthält etwa 7 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Verlag: Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, Telefon 61 44 68/69. Printed in Germany (Westberlin).

Abonnementspreis dieses Heftes 25,40 DM **Einzelpreis 28,— DM**

Società Montecatini — Istituto di Ricerche Agrarie
Laboratorio di Signa (Firenze), Italia
Direttore: Dr. G. Pellegrini

Ricerche istologiche sulle zone di insediamento del *Cycloconium oleaginum* Cast., agente dell' „occhio di pavone" dell' olivo

di

I. Tenerini e N. Loprieno

Con 16 figure

Indice: Premessa. — Parte Sperimentale. 1. Osservazioni su materiale integro, mediante colorazione del micelio. 2. Osservazioni su sezioni di organi diversi, precedentemente sottoposti a colorazione con bleu lattico. 3. Osservazioni su sezioni di organi diversi, sottoposti ad altre colorazioni e reazioni cromatiche. — Discussione ed interpretazione dei risultati. — Riassunto. — Summary. — Zusammenfassung. — Citazioni bibliografiche.

PREMESSA

Il *Cycloconium oleaginum* Cast. (*Spilocaea oleaginea* [Cast.] Hugh. 8), agente dell'„occhio di pavone" o „vaiolo" dell'olivo, è stato descritto per la prima volta nel 1845 in Francia (7); successivamente esso è stato oggetto di studio, specialmente nell'ultimo cinquantennio, da parte di numerosi AA . . Ciononostante le conoscenze derivanti dai dati della letteratura sono insufficienti — allo stato attuale — a fornire una visione del parassitismo del suddetto patogeno, in modo particolare per quanto si riferisce alle zone degli organi dell'olivo in cui esso si sviluppa.

Da qualche anno sono in corso presso il nostro Laboratorio ricerche sull'„occhio di pavone" dell'olivo allo scopo di approfondire e completare le conoscenze sul ciclo biologico del patogeno (11), sì da consentire la formulazione di metodi di lotta più razionali di quelli attualmente in uso contro questa dannosa fitopatia.

Nel quadro generale di tali ricerche sono state svolte indagini onde individuare e caratterizzare negli organi attaccati le zone entro cui si insedia il patogeno.

Come risulta dalla letteratura, gli organi più frequentemente colpiti sono le foglie; possono però essere attaccati anche il picciolo, le drupe e il loro peduncolo e, secondo alcune segnalazioni, anche i rametti dell'anno (15).

Sulla localizzazione del micelio entro i tessuti delle foglie le diverse interpretazioni finora formulate possono così riassumersi:

1. il micelio è localizzato esclusivamente negli strati cuticolari (BALDACCI 1, PETRI 15, RIVERA 16);
2. esso può insediarsi anche al di sotto dello strato epidermico (BOYER 3);
3. lo sviluppo delle ife è prevalentemente epidermico-cuticolare, ma esse possono anche invadere il parenchima (CAVADAS 5, CIFERRI 6);
4. il fungo si sviluppa nel primo strato di cellule epidermiche con comportamento intra ed intercellulare; in una seconda fase esso può insinuarsi anche fra le cellule del secondo strato ed in tal caso ha portamento esclusivamente intercellulare (MILLER 12).

PARTE SPERIMENTALE

Le nostre osservazioni sono state effettuate negli anni 1958-59, tutte su marteriale fresco prelevato di volta in volta da piante di olivo cv. Frantoio di sviluppo normale, in un oliveto sito sulla collina toscana in provincia di Firenze, fortemente attaccato dal Cicloconio, con manifestazioni della malattia sulla pagina superiore delle foglie, sulla nervatura primaria della

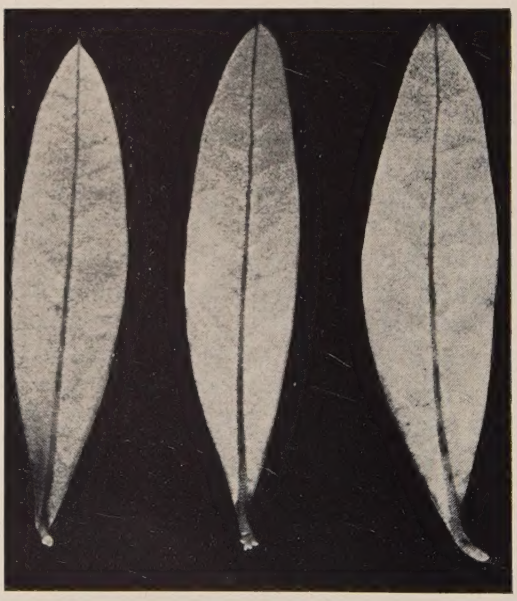


Fig. 1. Attacchi di *Cycloconium oleaginum* Cast. sulla nervatura mediana della foglia; pagina inferiore

Fig. 2. Attacchi di *Cycloconium oleaginum* Cast. sulla pagina inferiore della foglia. Il micelio é stato colorato con bleu-lattico

pagina inferiore fogliare (fig. 1) e sul picciolo delle stesse; sui peduncoli dei frutti e sulle drupe e, molto raramente, sulla pagina inferiore delle foglie (fig. 2) (quest'ultimo tipo di attacco è stato riscontrato in rarissimi casi).

Contemporaneamente, allo scopo di rendere più chiare le osservazioni, sono state sottoposte ad uguale serie di colorazioni e reazioni cromatiche anche le sezioni provenienti da materiale sano.

1. Osservazioni su materiale integro, mediante colorazione del micelio

Foglie integre di olivo, sulla cui pagina superiore sono presenti macchie di „occhio di pavone", vengono immerse per 2—3 giorni in una soluzione acquosa di cloralio idrato (2) (cloralio idrato = g 50 + acqua = g 20), dopo aver precedentemente asportato con cotone idrofilo i conidi presenti. Trascorso tale periodo, quando le foglie per azione del cloralio si sono chiarificate fino a divenire trasparenti o quasi (a seconda della loro età, grandezza e consistenza) vengono sciacquate brevemente in acqua e quindi tenute immerse per 1—2 giorni in una soluzione di bleu di metile in acido lattico (bleu di metile = g 0.3 + acido lattico = g 60) (13). Durante l'immersione delle foglie nella soluzione di bleu lattico, accade spesso che

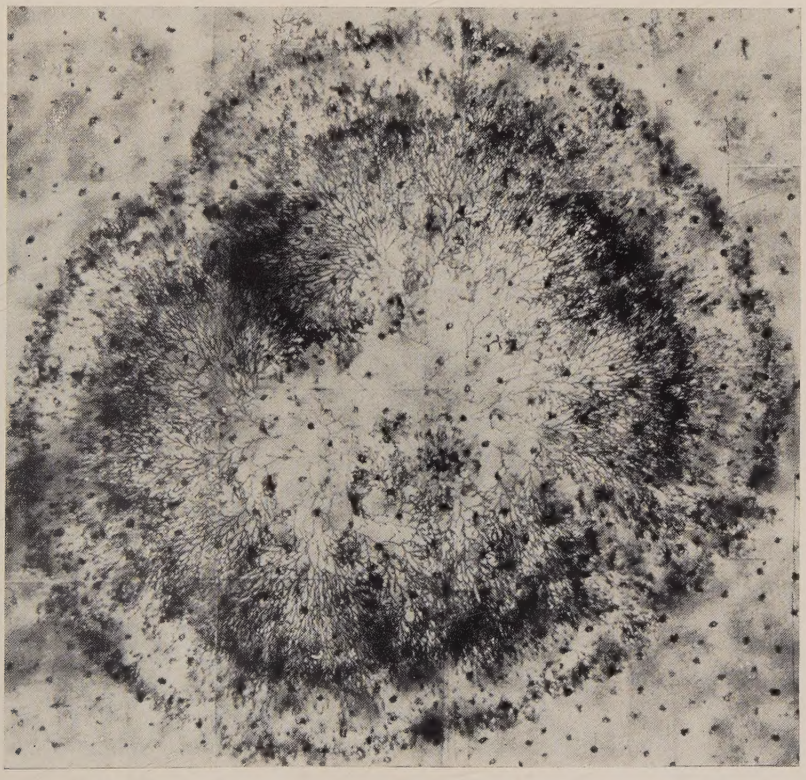


Fig. 3. Microfotografia di una macchia di Cicloconio, colorata con bleu-lattico (× 42) a sei mesi dall'infezione verificatasi nel giugno 1958

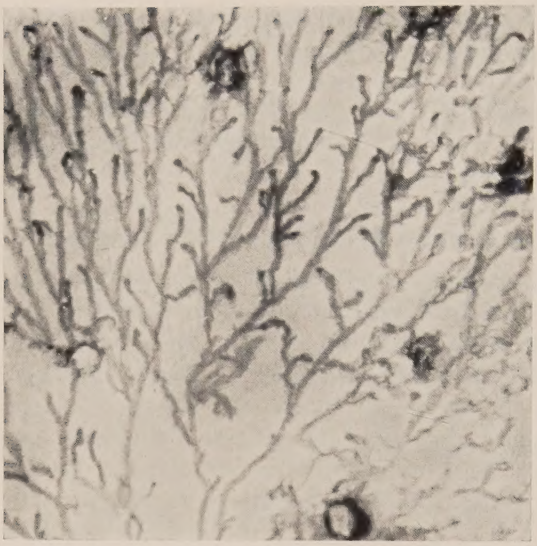


Fig. 4. Particolare ingrandito della zona centrale della macchia della fig. 3 (× 180)

il colorante venga assorbito attraverso la sezione del picciolo dalle nervature, le quali rimangono così colorate e impediscono quindi una visione chiara del micelio del patogeno. Per ovviare a tale inconveniente si immerge due o tre volte l'estremità del picciolo fogliare in paraffina fusa prima dell'immersione in bleu lattico, in modo da rendere impermeabile la sezione basale del picciolo.

Ultimata l'operazione di colorazione, le foglie si lavano abbondantemente con acqua e sono pronte per l'osservazione. Subito, ad occhio nudo, si rileva la colorazione bleu intensa delle zone occupate dal *Cycloconium oleaginum;* al microscopio si osserva il reticolo delle ife colorato in bleu, mentre il resto della foglia rimane incolore o leggermente colorato in giallo verdastro.

Impiegando lo stesso procedimento si riesce a colorare il micelio del Cicloconio nel peduncolo del frutto, nelle drupe e nei piccioli fogliari.

Se si segue il processo di colorazione del micelio direttamente al microscopio, prelevando, del materiale a vari periodi di tempo dall'immersione in bleu lattico, si nota che l'assorbimento del colorante avviene attraverso la sezione delle ife

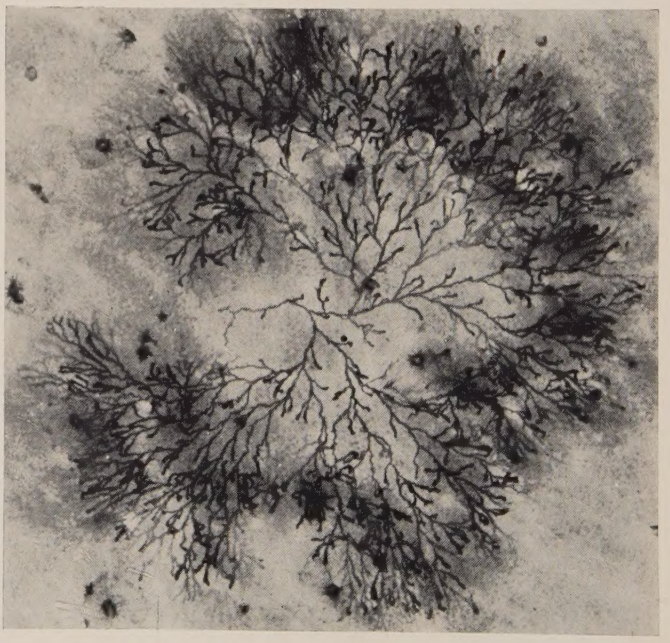


Fig. 5. Microfotografia di una macchia di Cicloconio, colorata con bleu-lattico (× 80), eseguita a distanza di un mese dalla infezione

su cui erano inseriti i conidiofori (asportati all'inizio del processo insieme ai conidi) e che la colorazione si estende via via a tutto il reticolo micelico presente nella zona colpita. Quando non si asportino i conidi, come specificato nella descrizione su riportata, la colorazione si svolge molto lentamente, perché l'assorbimento della sostanza colorante avviene necessariamente attraverso tali organi ed è quindi meno rapido.

Nelle zone fogliari colpite, il micelio del Cicloconio, colorato con questo procedimento, si presenta chiaramente visibile nella sua disposizione tipica a raggiera, con ramificazioni dendritiche sviluppantesi dal centro della macchia verso la periferia, in corrispondenza della quale si nota la maggiore produzione di conidi.

Nella fig. 3 è riprodotta una macchia di „occhio di pavone" a sei mesi dall'infezione, verificatasi nel giugno 1958, colorata con bleu lattico; la fig. 4 si riferisce al particolare della zona centrale. Nella macchia della fig. 3 è presente esternamente una seconda zona concentrica rappresentante un ulteriore sviluppo del patogeno, per effetto di ripristinate condizioni ambientali ottimali. Nella fig. 5 è riprodotta una macchia di „occhio di pavone" a breve distanza di tempo da un'infezione autunnale.

2. Osservazioni su sezioni di organi diversi, precedentemente sottoposti a colorazione con bleu lattico

a) Tecnica

Il materiale (foglie, piccioli, peduncoli e frutti) colorato con bleu lattico come descritto in 1), viene sottoposto a sezionamento per il rilevamento del comportamento che assume il micelio del *Cycloconium oleaginum* nell'interno degli organi.

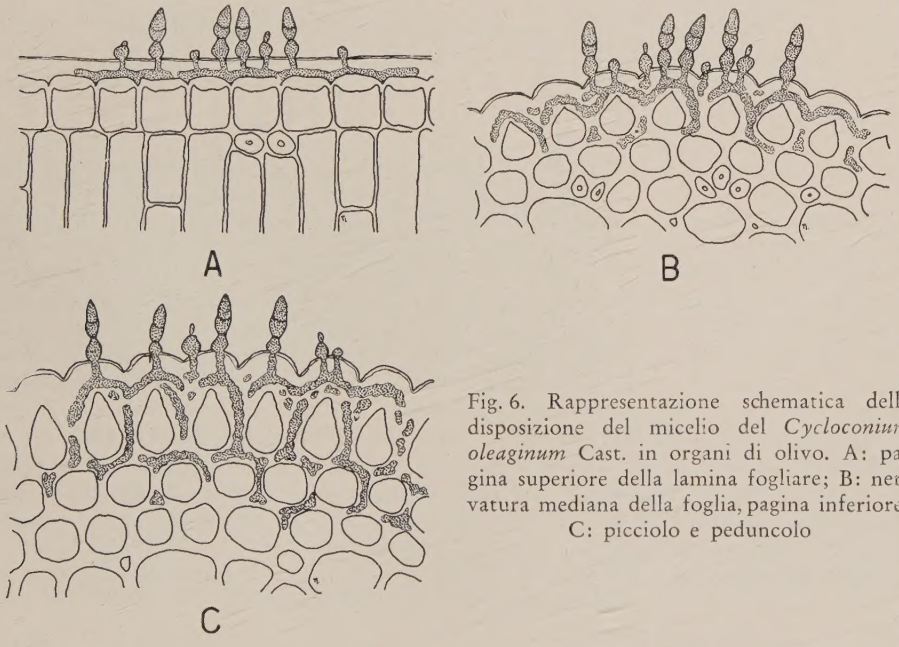


Fig. 6. Rappresentazione schematica della disposizione del micelio del *Cycloconium oleaginum* Cast. in organi di olivo. A: pagina superiore della lamina fogliare; B: nervatura mediana della foglia, pagina inferiore; C: picciolo e peduncolo

Le sezioni, dello spessore di μ 10—15, possono essere effettuate al microtomo mediante inclusioni in paraffina o per congelamento (9, 10, 13). Nelle sezioni preparate secondo questi due metodi, il micelio dell'agente patogeno si presenta, al microscopio, colorato in bleu intenso, mentre tutti i tessuti rimangono quasi completamente incolori, rendendo altamente chiara la localizzazione del fungo.

b) Osservazioni

Foglie: l'esame microscopio delle sezioni della pagina superiore mostra chiaramente che la zona occupata dal patogeno è quella posta immediatamente al di sotto della cuticola, cioè tra la parete esterna della membrana superiore delle cellule epidermiche e la cuticola, intendendo per quest'ultima quella che il PETRI chiama „cuticola propriamente detta" (15) (figg. 6 A, 7 F). Nel suo decorso, il micelio segue strettamente, nei suoi rilievi e nelle sue depressioni, il contorno della parete esterna della membrana superiore delle cellule epidermiche, senza mai scendere al di sotto dello strato epidermico, formato da una sola fila di cellule. Nelle zone di inserzione dei

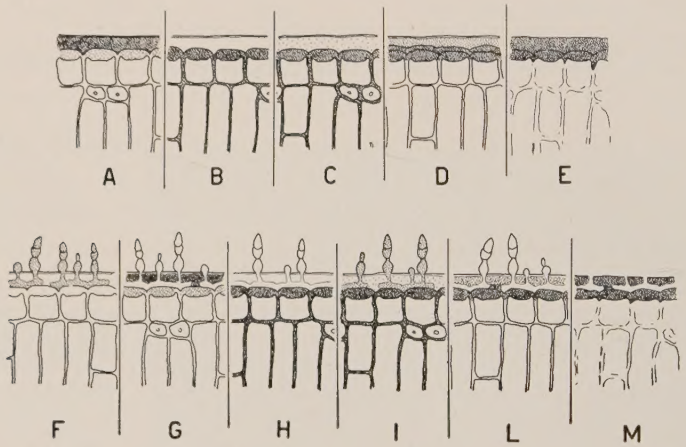


Fig. 7. Rappresentazione di sezioni di foglie di olivo (pagina superiore) mostrante l'azione di alcune sostanze su materiale sano (A—B—C—D—E) e su materiale infetto (F—G—H—I—L—M). A — Sudan III: la zona a punteggiatura fitta è colorata in rosso aranciato; la zona a punteggiatura rada è colorata in rosa pallido. B — Rosso di rutenio: la zona punteggiata è colorata in rosso violaceo. C — Rosso di rutenio e Sudan III: la zona a punteggiatura fitta è colorata in rosso violaceo; la zona a punteggiatura rada è colorata in rosso aranciato. D — Cloroioduro di zinco: la zona a punteggiatura fitta è colorata in rosso; la zona a punteggiatura rada è colorata in giallo. E — Acido solforico: la zona punteggiata è quella che non si scioglie. F — Bleu lattico: il micelio, i conidiofori e i conidi sono colorati in bleu. G — Come in A, ma in presenza di micelio. H — Come in B, ma in presenza di micelio. I — Bleu lattico, rosso di rutenio e Sudan III: la zona a punteggiatura fitta è colorata in rosso violaceo; la zona a punteggiatura rada si colora in rosso aranciato; il micelio e i conidi si colorano in bleu. L — Come in D, ma in presenza di micelio. M — Come in E: gli spazi vuoti della zona punteggiata erano occupati dal micelio, prima del trattamento

peli stellati sembra che il micelio penetri più in basso: tale errata impressione, però, è dovuta al fatto che in quella zona le cellule epidermiche sono collocate più in basso a formare la cavità dalla quale si origina il pelo. Anche in questo caso, le ife seguono il contorno esterno superiore delle cellule epidermiche, al di sotto della cuticola, come è chiaramente visibile nella fig. 8.

Nervatura fogliare primaria della pagina inferiore: in tali organi il micelio del Cicloconio, nel suo decorso, segue il contorno esterno superiore delle cellule epidermiche, insinuandosi tra cellula e cellula ed invadendo molto spesso la zona sita tra le cellule epidermiche e quelle del parenchima (fig. 6 B). Nella nervatura primaria della foglia, come anche nel picciolo e nel peduncolo, lo strato della cuticola è più ispessito, per cui il micelio si può trovare variamente sovrapposto ed intrecciato, diversamente da come si presenta nella sezione della pagina fogliare superiore, in cui se ne nota un solo strato.

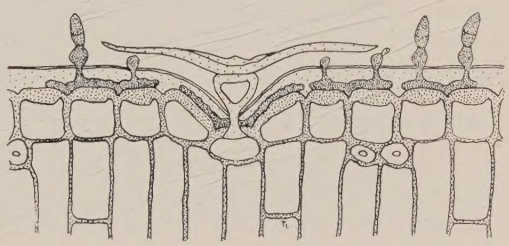


Fig. 8. Rappresentazione della disposizione del micelio del *C. oleaginum* Cast. nella pagina superiore della lamina fogliare, in corrispondenza di un pelo. La zona a punteggiatura rada è colorata con Sudan III in rosso aranciato; la zona punteggiata è colorata con rosso di rutenio in rosso violaceo; il micelio e i conidi a punteggiatura fitta sono colorati in bleu

Picciolo fogliare e peduncolo dei frutti: nel picciolo e nel peduncolo la localizzazione del micelio è analoga a quella che esso assume nella nervatura fogliare, con la differenza che in questi organi esso si spinge tra lo strato delle cellule epidermiche ed il primo strato delle cellule del parenchima e molto spesso anche più in profondità, cioè tra i primi due strati delle cellule parenchimatiche (fig. 6 C).

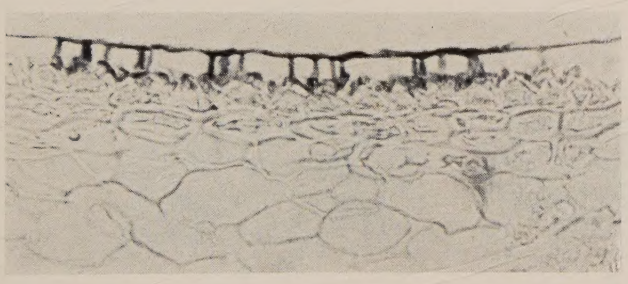


Fig. 9. Microfotografia della sezione trasversale del frutto di olivo, precedentemente trattato con bleu lattico, mostrante la localizzazione del micelio del *Cycloconium oleaginum* Cast (× 252)

Drupe: nelle drupe il micelio segue il contorno delle pareti esterne della membrana superiore delle cellule epidermiche, al di sotto della cuticola, senza oltrepassare lo strato epidermico. Sui frutti il comportamento che assume il decorso del fungo è molto più evidente in quanto in questi organi la cuticola è più spessa e le cellule epidermiche hanno una parete superiore esterna molto più curva, quasi come nella nervatura e nel picciolo (fig. 9).

3. Osservazioni su sezioni di organi diversi, sottoposte ad altre colorazioni e reazioni cromatiche

Allo scopo di individuare con maggiore esattezza le zone in cui penetra e si sviluppa il micelio del *Cycloconium oleaginum* e per confermare i reperti conseguiti con la colorazione in bleu lattico, sono state sottoposte a diverse colorazioni, reazioni cromatiche e all'azione dell'acido solforico sezioni di organi di olivo attaccati dal parassita; osservazioni parallele sono state eseguite su sezioni di organi sani. E' stato sempre utilizzato materiale raccolto in pieno campo di recente.

a) Organi sani

I. Colorazione con Sudan III

Le sezioni trasversali di μ 10—15, ottenute al microtomo per congelamento, sono state poste in una soluzione alcoolica satura di Sudan III per 5 minuti, sciacquate con acqua e montate su vetrino con glicerina. Il Sudan III è un colorante specifico delle sostanze grasse.

Osservazioni:

Pagina superiore della lamina fogliare: colorazione rosso-aranciata intensa della cuticola e molto debole delle membrane superiori delle cellule epidermiche; i rimanenti tessuti restano incolori (fig. 7 A).

Nervatura primaria della pagina inferiore fogliare: colorazione rosso-aranciata intensa della cuticola, delle zone intercellulari dello strato epider-

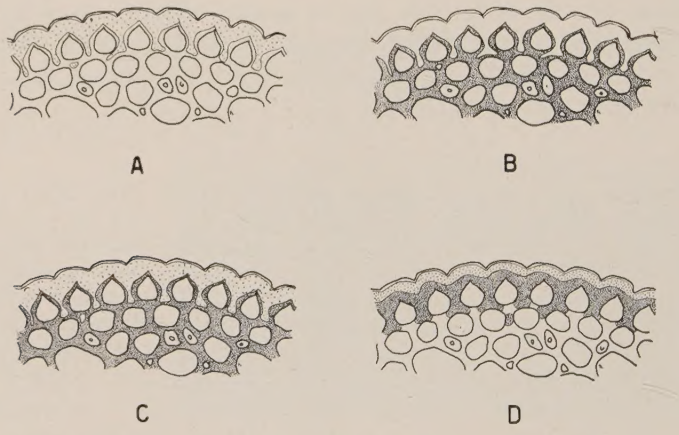


Fig. 10. Rappresentazione schematica di sezioni di nervature mediana di foglia di olivo sana, pagina inferiore, mostrante l'azione di alcune sostanze sui tessuti. A — Sudan III: la zona punteggiata é colorata in rosso aranciato. B — Rosso di rutenio: la zona punteggiata è colorata in rosso violaceo. C — Rosso di rutenio e Sudan III: la zona a punteggiatura rada è colorata in rosso aranciato, la zona a punteggiatura fitta in rosso violaceo. D — Cloroioduro di zinco: la zona a punteggiatura fitta è colorata in rosso; la zona a punteggiatura rada é colorata in giallo

mico e di alcune zone comprese tra le cellule epidermiche e lo strato superiore delle cellule del parenchima (figg. 10 A, 11).

Picciolo fogliare e peduncolo dei frutti: colorazione rosso-aranciata intensa della cuticola, delle zone intercellulari dello strato epidermico, delle zone comprese tra le cellue epidermiche e lo strato superiore delle cellule del parenchima e di alcune zone intercellulari comprese tra il primo e il secondo strato parenchimatico (fig. 12 A).

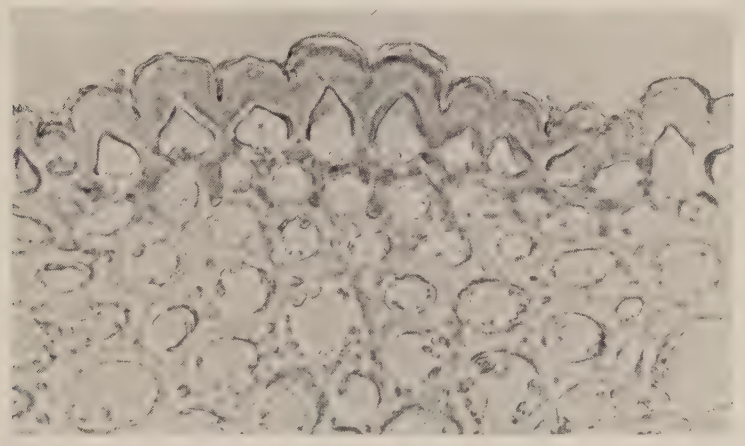


Fig. 11. Microfotografia della sezione trasversale di nervatura mediana della foglia di olivo sana, pagina inferiore, colorata con Sudan III. (× 531)

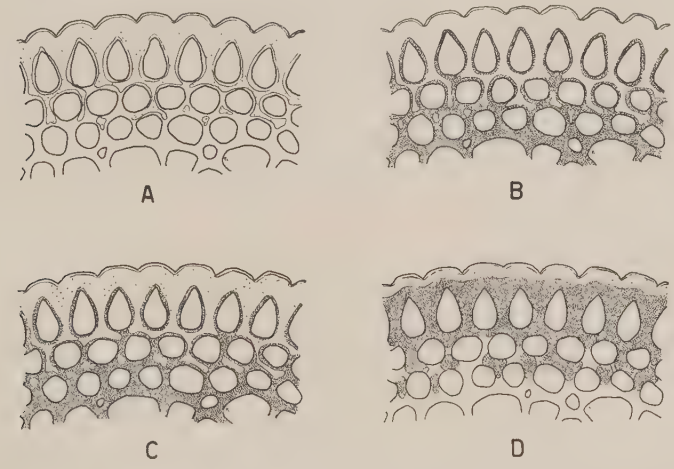


Fig. 12. Rappresentazione schematica di sezioni trasversali di picciolo o di peduncolo sani, mostrante l'azione di alcune sostanze sui tessuti. A = Sudan III: la zona punteggiata è colorata in rosso aranciato. B = Rosso di rutenio: la zona punteggiata è colorata in rosso violaceo. C = Rosso di rutenio e Sudan III: la zona a punteggiatura rada è colorata in rosso aranciato; la zona a punteggiatura fitta è colorata in rosso violaceo. D = Cloroioduro di zinco: la zona a punteggiatura fitta è colorata in rosso; la zona a punteggiatura rada è colorata in giallo

II. Colorazione con rosso di rutenio

Le sezioni, ottenute come sopra, si immergono per 1—2 minuti in una soluzione acquosa di rosso di rutenio (per preparare una soluzione di rosso di rutenio si depone una minima quantità della sostanza su un vetrino da orologio e vi si fanno cadere sopra poche gocce di acqua sino a dissolvere totalmente il colorante, ottenendo una soluzione non molto scura); si sciacquano quindi con acqua e si montano in glicerina. Il rosso di rutenio è un colorante specifico delle sostanze pectiche.

Osservazioni:

Pagina superiore della lamina fogliare: colorazione rosso-violacea intensa delle membrane delle cellule epidermiche e di quelle di tutte le altre cellule; la cuticola rimane incolora (fig. 7 B).

Nervatura primaria della pagina inferiore fogliare, picciolo fogliare e peduncolo: colorazione rosso-violacea intensa delle membrane di tutte le cellule; la cuticola e le zone analoghe che si colorano con Sudan III rimangono incolori (figg. 10 B e 12 B).

III. Colorazione combinata con rosso di rutenio e Sudan III

Le sezioni sono immerse per 2 minuti in una soluzione acquosa di rosso di rutenio, quindi, dopo lavaggio accurato con acqua, immerse per 5 minuti in una soluzione satura alcoolica di Sudan III; infine si lavano con acqua e si montano con glicerina.

Osservazioni:

Si notano, ben distinte, le due colorazioni di tono diverso di rosso che assumono le varie zone della sezione (figg. 7 C, 10 C, 12 C): nella fig. 7 C, ad es., che si riferisce ad una sezione della pagina fogliare superiore, si nota come le membrane cellulari hanno assunto la colorazione del rosso di rutenio, mentre la cuticola si è colorata in rosso-aranciato con Sudan III.

IV. Reazione con cloroioduro di zinco

Le sezioni sono deposte direttamente su vetrino portaoggetti e su di esse si appoggia un vetrino coprioggetto sul quale era stata applicata una piccola goccia di cloroioduro di zinco. Le osservazioni al microscopio vengono effettuate subito, poichè le sezioni così preparate si alterano dopo 1—2 ore.

Osservazioni:

Pagina superiore della lamina fogliare: la membrana superiore delle cellule epidermiche ed una parte della cuticola (parte basale) si colorano in rosso intenso; la rimanente parte della cuticola si colora in giallo (fig. 7 D).

Nervatura primaria della pagina inferiore fogliare: colorazione in rosso intenso delle membrane delle cellule epidermiche, di una parte della cuticola,

delle zone comprese tra le cellule dello strato epidermico e di alcune comprese tra questo strato e quello superiore parenchimatico (fig. 10 D).

Picciolo fogliare e peduncolo dei frutti: colorazione come per le sezioni della nervatura, estesa, però, anche alle zone comprese tra i primi due strati delle cellule parenchimatiche (fig. 12 D).

V. Trattamento con acido solforico

Si opera come indicato per la reazione con cloroioduro di zinco, impiegando una piccola goccia di acido solforico al 75 %.

Osservazioni:

Pagina superiore della lamina fogliare: l'acido scioglie quasi completamente tutti i tessuti ad eccezione della cuticola e della membrana superiore delle cellule epidermiche (fig. 7 E).

Nervatura primaria della pagina inferiore fogliare: rimangono intatte le parti che si colorano con Sudan III (fig. 13).

Picciolo fogliare e peduncolo: come per la nervatura.

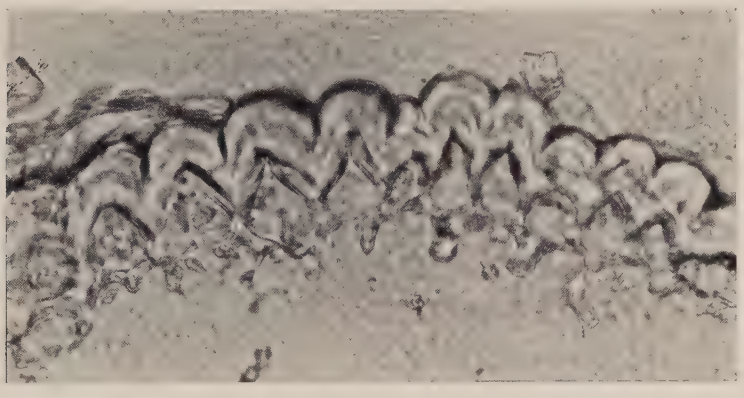


Fig. 13. Microfotografia della sezione trasversale della nervatura mediana di una foglia di olivo sana, pagina inferiore, trattata con ac. solforico. (× 531)

b) Organi infetti

Le sezioni di organi infetti sono state sottoposte alle identiche operazioni. Si riportano soltanto le osservazioni relative alla localizzazione del micelio del patogeno nella pagina superiore della lamina delle foglie di olivo, organi questi nella quasi totalità soggetti all'infezione: proprio per i forti attacchi fogliari, che portano alla caduta delle foglie, deriva alla pianta il maggior danno economico provocato dal patogeno.

Osservazioni:

I. Colorazione con Sudan III

La colorazione assunta dalle parti della sezione è identica a quella descritta per le sezioni di organi sani, con la differenza che la parte basale

della cuticola rimane incolora per la presenza delle ife del patogeno, le quali non si colorano. La membrana superiore delle cellule epidermiche si colora debolmente, presentandosi dello stesso spessore come per le foglie sane; la cuticola, al contrario, pur colorandosi in rosso, si presenta ridotta in spessore essendo presente nella sua parte basale il micelio del patogeno (fig. 7 G).

II. Colorazione con rosso di rutenio

La sezione colorata presenta lo stesso aspetto di quella effettuata su foglia sana. Infatti, poichè il micelio si sviluppa solo nella parte basale della cuticola e a spese di questa, la membrana superiore delle cellule epidermiche assume la stessa colorazione e si mantiene dello stesso spessore (fig. 7 H).

III. Colorazione con bleu lattico, rosso di rutenio e Sudan III

Sottoponendo alla doppia colorazione costituita da rosso di rutenio e Sudan III sezioni di foglie ammalate, precedentemente colorate con bleu lattico, si riesce a mettere maggiormente in rilievo, con molta esattezza, le zone di localizzazione del micelio del *Cycloconium oleaginum* Cast., per il comportamento specifico che presentano alle tre sostanze coloranti le zone interessate. Si seguono, impiegandoli di seguito, i procedimenti indicati per la colorazione con bleu lattico e per la colorazione doppia con rosso di rutenio e con Sudan III.

Al microscopio si osserva che la cuticola è colorata in rosso-aranciato; al di sotto di questa e, a stretto contatto con la parete esterna della membrana superiore delle cellule epidermiche, il micelio del Cicloconio colorato in bleu scuro; le membrane delle cellule epidermiche e di quelle dello strato parenchimatico sono, invece, colorate in rosso violaceo (fig. 7 I).

Con lo stesso procedimento si possono colorare tutti gli altri organi suscettibili al patogeno.

IV. Reazione con cloroioduro di zinco

Dopo tale reazione si osserva che la zona basale della cuticola rimane incolora per la presenza delle ife incolori del fungo: nelle sezioni delle foglie sane tale zona si colora, come si è visto, in rosso. Le membrane superiori delle cellule epidermiche non subiscono alcuna variazione sia del colore che dello spessore (fig. 7 L).

V. Trattamento con acido solforico

Sotto l'azione dell'acido anche le ife del Cicloconio si sciolgono: in corrispondenza di esse si notano dei vuoti indicanti le zone occupate dal patogeno, nell'interno di quelle parti che non sono state sciolte dall'acido solforico (fig. 7 M).

DISCUSSIONE ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dal complesso delle osservazioni descritte nel presente lavoro, effettuate sia su organi sani che su organi attaccati da *Cycloconium oleaginum* Cast., risulta chiara e definita la localizzazione delle zone interne degli organi di olivo nelle quali si insedia e si sviluppa il micelio del patogeno.

Nelle foglie di olivo, gli organi maggiormente interessati dall'azione parassitaria del fungo, il micelio del Cicloconio penetra, in seguito all'infezione, attraverso lo strato ceroso e la cuticola e si insedia nella parte basale di quest'ultima, entro cui si sviluppa durante il periodo di incubazione della malattia, stabilendo soltanto un contatto stretto con la parete esterna della membrana superiore delle cellule epidermiche, senza che la membrana e le cellule stesse vengano interessate almeno apparentemente all'azione del fungo. Ciò è confermato dalle osservazioni svolte su sezioni della lamina fogliare superiore colorate con rosso di rutenio e Sudan III. Impiegando questa doppia colorazione si mettono bene in evidenza la cuticola e la membrana superiore delle cellule epidermiche, le quali risultano ben distinte tra di loro, con una zona netta di divisione. Quando questa colorazione viene impiegata su sezioni provenienti da foglie attaccate dall'agente patogeno, lo spessore della cuticola si riduce, mentre la membrana superiore delle cellule epidermiche si conserva intatta: tra i due strati rimane incoloro — nella parte basale della cuticola — il micelio del patogeno, il quale non si colora nè con rosso di rutenio, nè con Sudan III. La reazione con cloroioduro di zinco pone in maggiore evidenza questi reperti: infatti, effettuando tale reazione su sezioni provenienti da foglie sane si nota una colorazione rossa, oltre che della membrana superiore delle cellule epidermiche, anche della porzione basale della cuticola, mentre la cuticola vera e propria si colora in giallo; su sezioni di foglie ammalate invece, sottoposte alla reazione con cloroioduro di zinco, il micelio insediato nella parte basale della cuticola rimane incoloro, mentre la cuticola si colora in giallo e la membrana superiore delle cellule epidermiche in rosso, conservando un aspetto e sviluppo normali.

In conclusione si può affermare che il micelio del *Cycloconium oleaginum* si sviluppa entro la parte basale della cuticola, posta ad immediato contatto con la parete esterna della membrana superiore delle cellule epidermiche: tale zona si colora con Sudan III, ma non con rosso di rutenio; trattata con cloroioduro di zinco assume una colorazione rossa e non si scioglie con acido solforico concentrato (75 %). Il patogeno inoltre si sviluppa a spese delle sostanze costituenti tale parte della cuticola, senza stabilire dei rapporti parassitari con le cellule epidermiche, poichè queste nelle foglie attaccate si presentano integre; non risulta che il *Cycloconium oleaginum* utilizzi le sostanze pectiche componenti la membrana superiore cellulare dello strato epidermico, poichè lo spessore di tale membrana si presenta della stessa misura e assume la stessa colorazione sia nelle foglie sane che in quelle ammalate.

Lo stesso comportamento del patogeno è stato rilevato nell'interno della nervatura fogliare, nel picciolo e nel peduncolo: il micelio è presente in quelle zone basali della cuticola che si colorano alla stessa maniera che

nella pagina fogliare: in questi organi però tali zone sono presenti anche negli spazi intercellulari dello strato epidermico (nervatura fogliare) e tra i primi due strati delle cellule del tessuto parenchimatico (picciolo e peduncolo) ed è perciò che il micelio penetra, in tali organi, più in profondità.

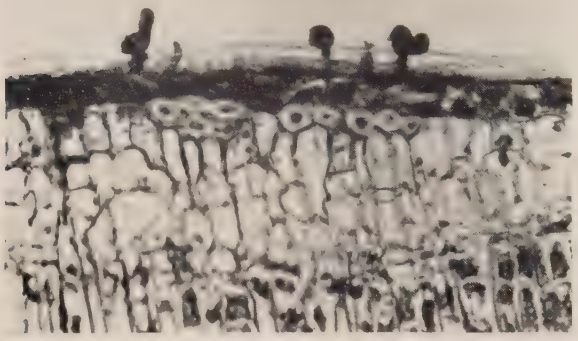


Fig. 14. Microfotografia della sezione trasversale di foglia di olivo (pagina superiore) attaccata da *Cycloconium oleaginum* Cast.: è visibile la formazione di tessuto suberificato tra lo strato epidermico e il tessuto a palizzata. (× 280)

In quegli organi in cui le sostanze costituenti la parte basale della cuticola sono assenti o poco rappresentate, come si verifica nei rametti e sulla pagina inferiore delle foglie, il *Cycloconium oleaginum* non provoca attacchi se non raramente, come è stato rilevato da PETRI (15), BOYER (3) e da noi sulla pagina inferiore delle foglie e, sempre da PETRI, sui rametti (15). In tali organi, come è facilmente rilevabile mediante le tecniche e le colorazioni da noi impiegate, lo strato della cuticola è sottilissimo (fig. 15 B), mentre la membrana superiore delle cellule è più o meno ispessita: il patogeno non trova quindi, in questi organi, le condizioni necessarie per il suo insediamento e sviluppo.

Questa diversa suscettibilità degli organi dell'olivo all'attacco del *Cycloconium oleaginum* Cast., dovuta al diverso spessore dello strato basale della cuticola, serve a spiegare uno dei meccanismi attraverso cui si esplica l'azione patologica del fungo. Tale azione si manifesta essenzialmente, secondo CASTELLANI (4), determinando uno squilibrio idrico sui tessuti interni degli organi attaccati.

Infatti l'azione parassitaria del *Cycloconium oleaginum* si svolge in quegli organi nei quali la difesa dell'equilibrio idrico è affidata alla cuticola: nelle foglie, nelle nervature, nei piccioli, nei peduncoli e nell'epicarpo delle drupe lo strato della cuticola è molto spesso (e quindi le sostanze basali utilizzabili dal patogeno sono più rappresentate), mentre sulla pagina inferiore della foglia e sui rametti questa protezione è svolta essenzialmente rispettivamente dai peli e dai tessuti suberizzati; in quei pochi centri di infezione del Cicloconio sulla pagina inferiore delle foglie da noi rilevati la parte basale della cuticola si è presentata di maggiore spessore; di tale opinione è anche il PETRI (15).

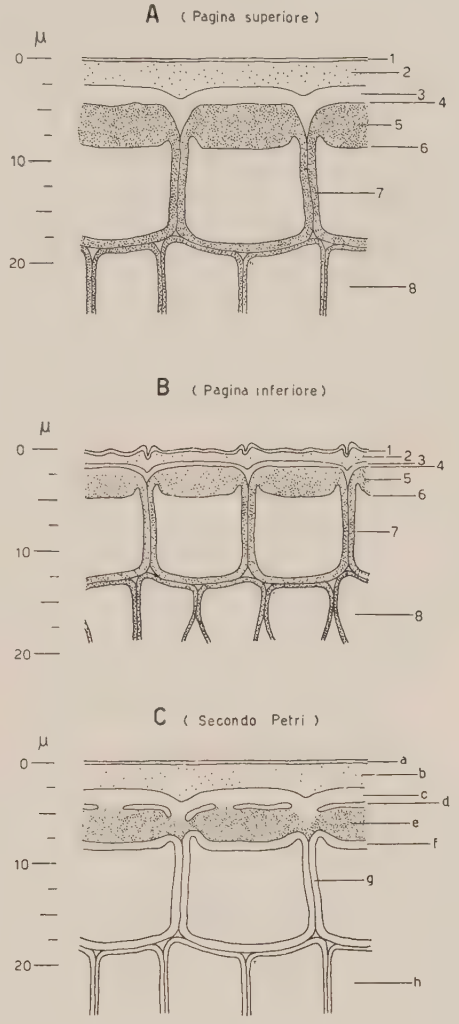
In alcuni casi è stata osservata la formazione di tessuto suberificato disposto tra lo strato epidermico e le cellule a palizzata nelle zone attaccate dal patogeno (fig. 14), per necessità da parte della piante di proteggere i

Fig. 15. Anatomia della zona cuticolare di foglia di olivo adulta e sana (rappresentazione schematica)

A = pagina superiore;
B = pagina inferiore;
C = pagina superiore sec. Petri.

A e B

1 = Strato ceroso,
2 = Cuticola propriamente detta,
3 = Parte basale della cuticola,
4 = Parete esterna della membrana,
5 = Membrana cellulare superiore,
6 = Parete interna della membrana,
7 = Membrana cellulare radiale,
8 = Parenchima.



C

a = Strato ceroso,
b = Cuticola propriamente detta,
c = Primo strato cuticolare,
d = Lamelle sostanze pectiche,
e = Secondo strato cuticolare,
f = Strato pectocellulosico,
g = Parete cellulare radiale,
h = Parenchima.

tessuti clorofilliani contro l'eccessiva traspirazione fogliare venutasi a creare con l'insediamento del Cicloconio: tale formazione è riportata anche dal Petri (15).

Dalle nostre osservazioni, effettuate allo scopo di individuare le zone nelle quali penetra e si sviluppa il micelio del Cicloconio, si possono stabilire i caratteri anatomici della cuticola e delle cellule epidermiche delle foglie di olivo. Procedendo infatti dall'esterno verso l'interno nella pagina superiore della foglia sana troviamo:

1 — strato ceroso;
2 — cuticola propriamente detta;
3 — parte basale della cuticola;
4 — membrana superiore delle cellule epidermiche.

Queste zone corrispondono perfettamente, sia pure diversamente interpretate, a quelle descritte dal PETRI (15) (fig. 15 C), il quale ritiene, contrariamente alle nostre osservazioni, che la membrana superiore delle cellule epidermiche costituisca invece un altro strato appartenente alla cuticola, che egli definisce „secondo strato cuticolarizzato"; non sono state da noi notate neppure le lamelle di sostanze pectiche descritte dallo stesso Autore. A dimostrazione di tale affermazione sono state svolte osservazioni sull'anatomia di foglie di olivo, dalla apertura delle gemme sino alla loro maturità. E' stato da noi osservato come la membrana superiore delle cellule epidermiche (fig. 16 A) si presenta, in foglie appena aperte, dello stesso spessore delle altre membrane radiali. Nel corso dello sviluppo della foglia, tale membrana si ispessisce verso l'interno, a spese del lume cellulare (fig. 16 B, C, D): l'altezza delle cellule epidermiche, invece, rimane pressochè costante sia nelle foglie giovani che in quelle mature.

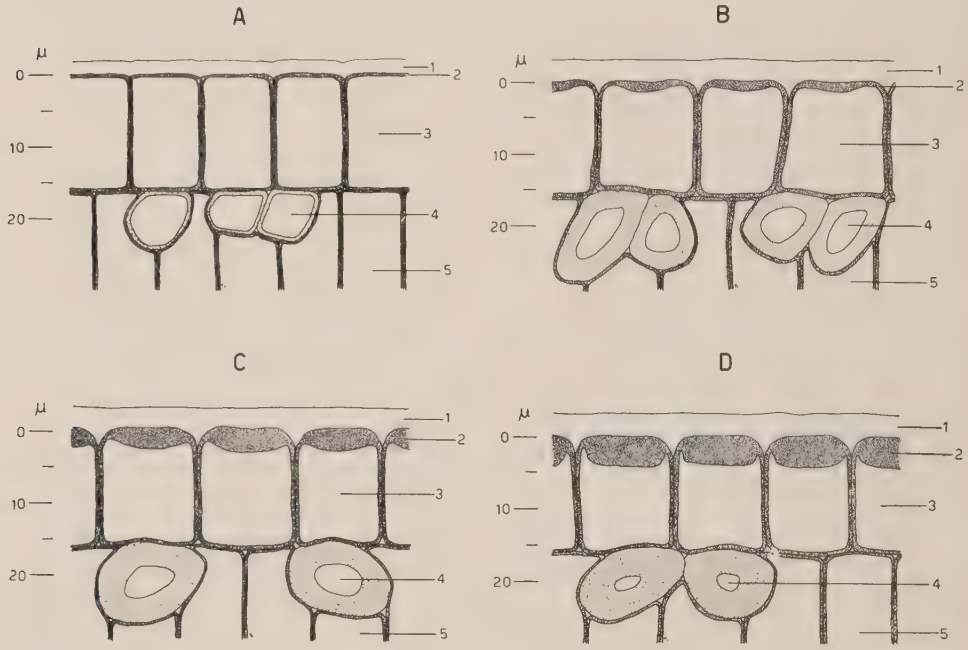


Fig. 16. Anatomia della foglia di olivo (pagina superiore), da 12 giorni dall'apertura della gemma (A) alla maturazione. Rappresentazione schematica. (cv. Frantoio). 1 = cuticola; 2 = membrana superiore delle cellule epidermiche; 3 = cellule epidermiche; 4 = fibre; 5 = cellule del palizzata

Questa conformazione della membrana superiore delle cellule epidermiche è stata accertata anche da PIROTTA (14).

Rimane inoltre confermato che il micelio del Cicloconio non si nutre di sostanze pectiche. Esso infatti si sviluppa al di fuori dello strato contenente tali sostanze (membrana superiore delle cellule epidermiche).

Recentemente Miller (12) ha messo in evidenza nel tessutó epidermico della pagina superiore delle foglie dell'olivo, due strati di cellule, uno dei quali, quello più esterno, con la membrana ispessita e con lume cellulare ridottissimo. Nel corso delle nostre ricerche non è stata mai notata questa struttura.

I rilevamenti effettuati sull'anatomia dei primi strati nella pagina superiore della foglia, dalla apertura delle gemme alla maturità, dimostrano, inoltre, come esista soltanto un unico strato di cellule epidermiche (fig. 16).

Una conferma di quanto da noi affermato deriva dal fatto che, osservando al microscopio sezioni di foglie infette, molto spesso si nota che la cuticola si stacca dal resto della sezione proprio nei punti in cui è presente il micelio del Cicloconio: in tali punti le cellule epidermiche rimangono senza cuticola ed i loro contorni sono perfettamente individuabili, mettendo chiaramente in evidenza la loro disposizione in unico strato, con la membrana superiore fortemente ispessita.

Anche secondo Pirotta (14) e Ruby (17) è stato dimostrato che il tessuto epidermico della pagina superiore delle foglie di olivo è costituito da un solo strato di cellule.

Quasi tutte le colorazioni e le reazioni cromatiche effettuate su organi di olivo della cv. Frantoio sono state applicate anche su organi della cv. Leccino, conseguendo sempre gli stessi risultati.

Riassunto

Sono state svolte ricerche istologiche al fine di individuare le zone di insediamento del *Cycloconium oleaginum* Cast., agente dell' „occhio di pavone" dell'olivo. A tale scopo sono stati sottoposti a colorazione le sezioni di tutti gli organi di olivo suscettibili di attacco.

E' stato così accertato che sulla pagina superiore della lamina fogliare in foglie viventi il micelio del Cicloconio si insedia nello strato basale della cuticola, a contatto della parete esterna della membrana superiore delle cellule epidermiche senza penetrare in tali cellule; in questa zona il patogeno si sviluppa e spese delle sostanze costituenti tale strato, senza apparentemente intaccare le sostanze costituenti la membrana cellulare.

Nella nervatura primaria della foglia, in corrispondenza della pagina inferiore, nel picciolo e nel peduncolo, nei quali lo strato basale della cuticola è presente anche tra gli spazi intercellulari, sia dello strato epidermico che dei primi due strati di cellule parenchimatiche, il micelio si insinua più profondamente, al di sotto dello strato epidermico, nelle zone dove sono presenti le sostanze cuticolari. Nella drupa il Cicloconio è localizzato, come nelle foglie, ad immediato contatto delle cellule epidermiche, rimanendo però sempre nella parte basale della cuticola.

Nella pagina inferiore fogliare e nei rametti giovani, nei quali organi la cuticola è molto ridotta, gli attacchi del Cicloconio si verificano molto raramente, soltanto in quei punti in cui lo strato cuticolare è più spesso.

Summary

Histological studies have been made in an attempt to detect the areas, in living tissues, where the olive leaf spot, *Cycloconium oleaginum* Cast., grows.

By means of stained sections of infected material it has been demonstrated that the fungous micelium grows in the lower layer of the cuticle of the upper leaf surface, coming into contact with the external side of the epidermal cell wall: here the pathogen utilizes the cuticle as a food source, without destroying the epidermal cell wall.

In living leaves *Cycloconium oleaginum* Cast. never passes through the epidermal layer of the upper leaf surface. On the midrib of the lower leaf surface, on the leaf petiole and on the fruit stem — on which the lower layer of the cuticle is extended through intercellular spaces of the epidermal layer and the first two palisade layers — the micelium develops below the epidermal cells. On the fruit, as on the leaf, *Cycloconium oleaginum* develops on the cuticular lower layer, contiguous to the epidermal cell walls.

On the lower blade and on the young twig, on which the cuticle is thin, the infections by the pathogen scarcely occur and are scattered, only where the cuticular layer is thick.

Zusammenfassung

Die Verfasser versuchten festzustellen, welche Organe des Ölbaumes *Cycloconium oleaginum* Cast., der Erreger der „occhio di pavone", besiedelt. Zu diesem Zwecke wurden die Gewebe der anfälligen Organe verschiedenen hystologischen Färbungen unterzogen. Danach entwickelt sich das Myzel von *Cycloconium oleaginum* in der innersten Schicht der Kutikula der Blattoberseite in Berührung mit der äußeren Wandschicht der Epidermiszellen. Der Erreger verwertet die Stoffe, welche er in dieser Schicht vorfindet, ohne die Stoffe der Zellwände oder der Zellen anzugreifen.

Solange die Blätter noch am Baume hängen, dringt der Pilz nicht weiter in die Epidermis der Blattoberseite ein. Blattunterseits vermag er allerdings bis zwei Zellschichten unter die Epidermis zu wachsen, ebenso in den Blatt- und Fruchtstielen, weil in diesen Organen die innerste Schicht der Kutikula sich durch die Zwischenzellräume der Epidermis und der obersten Zellschichten des Parenchyms fortsetzt. In den Steinfrüchten wie auch in den Blättern ist der Pilz in der innersten Schicht der Kutikula lokalisiert, und er steht in Berührung mit den Wänden der Epidermiszellen. Auf der Blattunterseite und auf den Trieben haften Infektionen wegen der geringen Dicke der Kutikula selten. Der Pilz vermag hier nur mit Erfolg einzudringen, wenn die Kutikula stellenweise etwas dicker ist.

Citazioni bibliografiche

1. Baldacci, E., 1948: Osservazioni sopra alcune malattie crittogamiche dell'olivo in Sicilia. Olearia **II**, 557—562.
2. Bell, F. H., 1951: Distribution of hyphae of several plant-pathogenic fungi in leaf tissues. Phytopathology **41**, 3.
3. Boyer, G., 1891: Recherches sur les maladies de l'olivier. Le *Cycloconium oleaginum*. 1—8, Ed. Boehm, Montpellier: cit. sec. C. Modugno Pettinari, 1958: Primo contributo alle ricerche su *Cycloconium oleaginum* Cast. e sul comportamento del parassita in oliveti del Lazio. Boll. Staz. Pat. veget. Roma **XV**, s. III, 215—239, 1957.
4. Castellani, E., 1952: Osservazioni e ricerche sull' „occhio di pavone" dell'olivo in Sardegna. I. La caduta anticipata delle foglie. Olearia **5—6**, 3—10.
5. Cavadas, D. S., 1925: La situation phytopathologique au Pelion (Grèce). Rev. Path. Veg. et Ent. Agric. **XII**, 2, 164—179: cit. sec. G. Viennot Bourgin, 1949: Les champignons parasites des plantes cultivées, Masson & Cie., Paris, Tome II, p. 1484.
6. Ciferri, R., 1952: Manuale di Patologia Vegetale, II, ed. Soc. Dante Alighieri: cit. sec. P. Gambogi, 1958: Qualche notizia sull'Occhio di pavone o Cicloconio dell'olivo (Nota descrittiva). Agr. Ital. **LVIII** (**XIII** N. S.), 18—40.
7. Gambogi, P., 1958: Qualche notizia sull'Occhio di pavone o Cicloconio dell'olivo (Nota descrittiva). Agr. Ital. **LVIII** (**XIII** N. S.), 18—40.
8. Hughes, G. J., 1953: Some foliicolous Hyphomyceses. Canadian J. Bot. **31**, 560—576.
9. Johansen, D. A., 1940: Plant microtecnique, Mc Graw-Hill B. C. Inc., New York.
10. Langeron, M., 1949: Précis de Microscopie, Masson & Cie., Paris.
11. Loprieno, N., e I. Tenerini, 1959: Metodo per la diagnosi precoce dell'„occhio di pavone" dell'olivo (*Cycloconium oleaginum* Cast.). Phytopath. Z. **34**, 4, 385—392.
12. Miller, H. N., 1949: Development of the leaf spot fungus in the olive leaf. Phytopathology **39**, 403—410.
13. Perotti, R., 1927: Tecnica di Biologia Vegetale applicata all'Agricoltura. Vallerini, Pisa.
14. Pirotta, R., 1885: Contribuzione all'anatomia comparata della foglia. I. Oleacee. Ann. R. Ist. Botan. Roma **II**, 22—47.
15. Petri, L., 1913: Studi sulle malattie dell'olivo, III — Alcune ricerche sulla biologia del *Cycloconium oleaginum* Cast. Bertero, Roma.
16. Rivera, V., 1954: Malattie delle piante. Ed. Amatrice: cit. sec. P. Gambogi, 1958: Qualche notizia sull'Occhio di pavone o Cicloconio dell'olivo (Nota descrittita). Agr. Ital. **LVIII** (**XIII** N. S.), 18—40.
17. Ruby, M. J., 1917: Recherches morphologiques et biologiques sur l'olivier et sur ses variétés cultivées en France. Ann. Scien. Naturelles, 9e Serie Botanique **XX**, 1—287.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Virusserologie, Braunschweig

Serologische Untersuchungen zur Differenzierung von Isolaten des *Phaseolus*-Virus 2 und ihrer Verwandtschaft mit *Phaseolus*-Virus 1

Von

R. Bercks

Mit 2 Abbildungen

In den letzten Jahren sind einige serologische Untersuchungen über das *Phaseolus*-Virus 2 (bean yellow mosaic, Bohnenvirus 2) veröffentlicht worden, die sich in der Hauptsache um eine Identifizierung dieses Virus bemühten, aber auch die Beziehungen zu anderen Viren klären sollten. Van Koot und Mitarbeiter (6) wiesen im Jahre 1954 das Virus in Freesien nach. Corbett (4) teilte 1956 aus Florida mit, daß das Lupinen-Virus Nr. 1 und das cowpea mosaic virus (*Marmor vignae*) als Stämme des Bohnenvirus 2 anzusehen seien. Ebenfalls im Jahre 1956 berichtete Goodchild (5) aus Australien über serologische Überkreuzreaktionen zwischen einem Stamm des *Phaseolus*-Virus 2 und zwei Stämmen des Erbsenmosaikvirus. Da diesem Autor eine Differenzierung nicht gelang, äußerte er die Ansicht, daß der Grad der Verwandtschaft absolut zu sein scheine, es sich also um Stämme eines einzigen Virus handele. Allerdings sei es auch möglich, daß die Untersuchungstechnik für eine Unterscheidung nicht ausreichend gewesen sei. Tinsley (9) teilte im Jahre 1957 mit, daß er ein Antiserum gegen einen aus Gladiolen isolierten Bohnen-Virus-2-Stamm gewonnen und zur Unterscheidung zwischen diesem und anderen Leguminosen-Viren benutzt habe. Roland (8) stellte 1958 ein Serum gegen ein Mosaik-Virus aus *Vicia faba* her. Auf Grund einer serologischen Prüfung und sonstiger Eigenschaften des Virus sah er es vorläufig als eine Variante des *Phaseolus*-Virus 2 an. Schließlich ist noch eine Arbeit von Beemster und van der Want (1) aus dem Jahre 1951 zu nennen, in der zum erstenmal die Herstellung von Seren gegen *Phaseolus*-Virus 1 und *Phaseolus*-Virus 2 mitgeteilt wurde. Die Autoren stellten auch die serologische Verwandtschaft der beiden Viren fest, ohne allerdings Angaben über den Grad dieser Verwandtschaft machen zu können.

Die eigenen Untersuchungen hatten das Ziel, Stämme des Bohnen-Virus 2 (PV 2), die ursprünglich aus verschiedenen Wirtspflanzen isoliert worden waren, serologisch zu differenzieren und damit einen Anhaltspunkt für die Variationsbreite des Virus zu erhalten sowie die Verwandtschaft zum Bohnen-Virus 1 (PV 1) zu prüfen.

Methodik

Für die Untersuchung wurden folgende vier Isolate des PV 2 verwendet: 1. L 778, aus weißer Bitter-Lupine isoliert, 2. EV 500, aus Erbse, 3. WK, aus Wundklee (*Anthyllis vulneraria* L.), 4. ein amerikanisches Isolat. Von PV 1 wurde nur das Isolat P 487 benutzt[1]). Die PV 2-Stämme wurden auf *Vicia faba* vermehrt, da das Virus in dieser Wirtspflanze im allgemeinen höhere Konzentrationen erreicht als in *Phaseolus*. Außerdem eignete sich *Vicia faba* für die Herstellung von gereinigten Viruspräparaten besser als *Phaseolus*. Die partiellen Virusreinigungen wurden teilweise nach einem früheren Vorschlag von Wetter, wie bei der bereits beschriebenen Herstellung von Seren gegen PV 1 (2), durchgeführt. In anderen Fällen wurde ein inzwischen weiter entwickeltes Verfahren benutzt, über das Wetter ausführlich berichten wird. Die Viruslösungen injizierten wir den Kaninchen entweder intravenös oder unter Anwendung der Adjuvant-Methode (mit Hilfe von Difco-Präparaten) intramusculär. Mehrfach wurden auch beide Verfahren kombiniert. Wenn die Seren nicht den gewünschten Titer ergaben, führten wir eine Konzentrierung der Antikörper durch. Dazu wurde das Serum durch Zusatz von kristallinem Ammoniumsulfat auf eine Sättigung von 40 % gebracht, der Niederschlag mehrfach mit einer 40 %igen Ammoniumsulfatlösung gewaschen und anschließend gegen physiologische Kochsalzlösung dialysiert. Dieses Verfahren, das wir auch mit Erfolg bei Seren gegen kugelförmige Viren anwendeten, ermöglicht unter Umständen eine Steigerung auf das Mehrfache des ursprünglichen Titers. Außerdem ist das Bild der serologischen Reaktion bei Verwendung derartiger Seren oftmals klarer.

Zur Differenzierung der Viren wurden die Seren mit heterologem Antigen abgesättigt und dann jeweils mit dem homologen und allen heterologen Antigenen geprüft. Es erwies sich als unzweckmäßig, Absättigung und Prüfung mit rohen bzw. zentrifugierten Preßsäften kranker Pflanzen durchzuführen. Der Virusgehalt der Preßsäfte war so unterschiedlich, daß bei Versuchswiederholungen die Absättigung der Seren mit sehr verschiedenen Mengen vorgenommen werden mußte. Dadurch trat unter Umständen eine derart große Serumverdünnung ein, daß heterologe Reaktionen nicht mehr erfaßt wurden. Ein negativer Ausfall der serologischen Reaktionen war ebenfalls durch eine zu geringe Viruskonzentration in den untersuchten Preßsäften möglich. Aus diesen Gründen schwankten die Ergebnisse so stark, daß keine

[1]) Herrn Dr. L. Quantz (Institut für landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig) danke ich für die Überlassung der Isolate P 487, L 778 und EV 500, Herrn K. Zschau (Biolog. Zentralanstalt, Kleinmachnow) für die Überlassung des Isolates WK und Herrn Professor Hagedorn (University of Wisconsin, Madison) für die Überlassung des von Zaumeyer isolierten amerikanischen Stammes.

genügende Auswertung möglich war. Wir arbeiteten deshalb für die Absättigung und auch für die anschließende Prüfung mit partiell gereinigten Viruspräparaten, die wir zur Stabilisierung mit 10 % Glyzerin versetzten. Bei der Vorbehandlung der Seren, deren Titer teilweise verschieden waren, achteten wir nur darauf, daß keine Reaktion mehr mit dem zur Absättigung benutzten Virusisolat auftrat, ohne den Absättigungspunkt genau zu bestimmen. Ohne Zweifel ist es daher in manchen Fällen zu einer stärkeren Serumverdünnung gekommen als notwendig gewesen wäre. Nach der Vorbehandlung wurden die Seren zur Entfernung von überschüssigem Antigen 10′ auf 60 °C erhitzt und dann zentrifugiert.

Das verwendete PV 1-Isolat wurde nicht gereinigt, da nach unseren früheren Erfahrungen (2) Preßsäfte von kranken Pflanzen mit genügender Viruskonzentration gewonnen werden konnten und, wie schon erwähnt, die Aufarbeitung von *Phaseolus*-Pflanzen Schwierigkeiten bereitete.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt worden, aus der Einzelheiten zu entnehmen sind. Als erstes zeigt sich, daß sämtliche Seren und Viren Überkreuzreaktionen geben und somit in allen Fällen eine Verwandtschaft vorhanden ist. Als zweites ist aus dem Titer der nicht vorbehandelten und der mit den einzelnen Isolaten abgesättigten Seren zu ersehen, in welchem Umfang eine Beziehung besteht. Die Reihenfolge der Seren und Viren in der Tabelle berücksichtigt in etwa den Grad der Verwandtschaft entsprechend dem Ausfall der serologischen Reaktionen.

Dies sei für das PV 2 an dem Isolat L 778 erläutert. Das L 778-Serum reagiert homolog bis zu einer Verdünnung von 1 : 12 000. Der Titer gegen die übrigen Isolate nimmt in der Reihenfolge Am, EV 500, WK ab und beträgt gegenüber WK nur 1 : 192 (= $^1/_{62}$ des homologen Wertes). Eine Vorbehandlung des Serums mit dem PV 1-Isolat P 487 ergibt die gleiche Reihenfolge. Die Absättigung mit Am beeinflußt die Reaktion gegenüber L 778 nur wenig, führt aber zu einem starken Titerrückgang gegen EV 500 und WK. Eine Vorbehandlung mit EV 500 hat ebenfalls nur einen geringen Einfluß auf den Titer gegen L 778, läßt jedoch den Titer gegen Am stark absinken und bewirkt einen völligen Reaktionsverlust gegen WK. Die Absättigung des Serums mit WK macht wiederum die graduellen Unterschiede sehr deutlich. EV 500, das dem WK am nächsten steht, zeigt den stärksten Titerverlust. Der Titer gegen Am nimmt entsprechend der vorgenommenen Eingruppierung weniger ab. Am geringsten wirkt sich die Vorbehandlung auf die Reaktion mit L 778 aus.

Zur Charakterisierung der Isolate kann nicht nur die Reaktion der gegen sie hergestellten Seren herangezogen werden, sondern es ist auch die Wirkung der einzelnen Isolate bei der Vorbehandlung der verschiedenen Seren zu berücksichtigen (s. senkrechte Spalten der Tabelle). L 778 läßt in dieser Beziehung allerdings keine Differenzierung erkennen. Die Seren gegen

Tabelle

Serologische Reaktionen von einem Isolat des *Phaseolus*-Virus 1 und vier Isolaten des *Phaseolus*-Virus 2, in Spalten 2 bis 6 Serentiter nach Vorbehandlung mit den einzelnen Isolaten

	1					2					3				
						nach Vorbehandlung mit: P 487					L 778				
Prüfung gegen Isolat:	P 487	L 778	Am	EV 500	WK	P 487	L 778	Am	EV 500	WK	P 487	L 778	Am	EV 500	WK
AS Phas. I a)[1]	3500	864	432	108	108						1700	0	0	0	0
P 487 b)[2]	1	1/4	1/8	1/32	1/32						1/2				
AS Phas. II a)	8	12000	3000	1500	192	0	8000	1000	512	64					
L 778 b)	1/1500	1	1/4	1/8	1/62		1/15	1/12	1/24	1/200					
AS Phas. II a)	192	48000	48000	48000	24000	0	4000	6000	4000	2000	0	0	64	64	64
Am b)	1/240	1	1	1	1/2		1/12	1/8	1/12	1/24			1/800	1/800	1/800
AS Phas. II a)	4	770	3000	3000	3000	0	512	1000	2000	2000	0	0	512	512	512
EV 500 b)	1/750	1/4	1	1	1		1/6	1/3	1/15	1/15			1/6	1/6	1/6
AS Phas. II a)	4	192	1500	1500	1500	0	128	1024	1024	1024	0	0	1024	1024	1024
WK b)	1/375	1/75	1	1	1		1/12	1/15	1/15	1/15			1/15	1/15	1/15

	4					5					6				
						nach Vorbehandlung mit:									
	Am					EV 500					WK				
AS Phas. I a)[1]	1700	±[3]	0	±	0	1700	±	0	0	0	1700	0	0	0	0
P 487 b)[2]	1/2					1/2					1/2				
AS Phas. II a)	0	8000	0	32	32	0	8000	32	0	0	0	8000	4000	1000	0
L 778 b)		1/15		1/400	1/400		1/15	1/400				1/15	1/3	1/12	
AS Phas. II a)						±	3800	240	0	0	0	30000	3800	960	0
Am b)							1/13	1/200				1/16	1/13	1/48	
AS Phas. II a)	±	0	0	40	40						0	100	100	0	0
EV 500 b)				1/75	1/75							1/30	1/30		
AS Phas. II a)	0	32	0	±	32	0	64	0	0	32					
WK b)		1/47			1/47		1/24			1/47					

[1] a) = reziproker Serumtiter.
[2] b) = Verhältnis zwischen homologem Titer und den übrigen Titerwerten desselben Serums; homologer Titer = 1.
[3] ± = in einigen Versuchen positive Reaktionen.

Am, EV 500 und WK reagieren nach Absättigung mit L 778 in gleicher Weise gegen die übrigen Isolate, während z. B. die Absättigungen mit Am deutliche Unterschiede in den Reaktionen der Seren zur Folge haben.

Das Serum gegen den PV 1-Stamm P 487 reagiert, wenn auch unterschiedlich, verhältnismäßig stark mit allen Isolaten des PV 2, während die PV 2-Seren erheblich schwächer mit P 487 reagieren. Eine Absättigung des PV 1-Serums mit einem beliebigen PV 2-Isolat beeinflußt den homologen Titer (gegen P 487) nur wenig, bewirkt aber, daß das Serum im allgemeinen mit keinem Isolat des PV 2 mehr reagiert. Allerdings traten gelegentlich Ausnahmen auf. In einigen Fällen beobachteten wir nach Vorbehandlung mit Am noch eine schwache Reaktion mit L 778 und EV 500 und nach Vorbehandlung mit EV 500 eine Reaktion mit L 778 (in der Tabelle mit ± bezeichnet). Eine Absättigung der PV 2-Seren mit P 487 beeinflußt nur wenig die Titer gegen die PV 2-Isolate, andererseits verursacht die Absättigung mit jedem heterologen PV 2-Isolat im allgemeinen ein Ausbleiben der Reaktion mit PV 1. Eine Ausnahme davon zeigte sich bei der Absättigung des EV 500-Serums durch Am. Hierbei kam es gelegentlich noch zu einer Reaktion mit P 487.

Besprechung

CHESTER (3) hat im Jahre 1936 zur Charakterisierung der Unterschiede zwischen verschiedenen Stämmen eines phytopathogenen Virus erstmalig Antigen- bzw. Antikörper-Formeln aufgestellt. Derartige Formeln sind auch später gelegentlich benutzt und diskutiert worden (7). Sie berücksichtigen nur den positiven bzw. negativen Ausfall der Reaktion, erfassen aber nicht einen nur teilweise eintretenden Titerverlust, der ebenfalls eine Aussage über den Grad der Verwandtschaft erlaubt. Wir haben aus diesem Grunde keine Formeln aufgestellt, sondern in der Tabelle neben den reziproken Werten der Serum-Titer noch andere Relativ-Zahlen aufgeführt. Sie geben das Verhältnis zwischen dem jeweils mit der Zahl 1 bezeichneten homologen Titer des nicht vorbehandelten Serums und den übrigen Titerwerten desselben Serums an. Die Art der Versuchsdurchführung gestattet zwar nicht, kleine Unterschiede in den Verhältniszahlen als reell anzusehen, wohl aber können die zum Teil vorhandenen großen Unterschiede zur Abschätzung des Verwandtschaftsgrades herangezogen werden.

Die Versuche lassen erkennen, daß zweifellos die von BEEMSTER und VAN DER WANT angegebene serologische Verwandtschaft zwischen PV 1 und PV 2 besteht. Betrachten wir die Reaktionen des PV 1-Serums mit den vier PV 2-Isolaten, so entsteht der Eindruck einer zwar etwas unterschiedlichen aber doch nahen Verwandtschaft, auf Grund der es gerechtfertigt wäre, die beiden Viren als Varianten einer Art anzusehen. Dagegen lassen die Reaktionen der PV 2-Seren nur eine geringe Beziehung erkennen. Damit stimmt überein, daß die Vorbehandlung des PV1-Serums mit einem beliebigen PV2-Isolat den homologen Titer nur wenig verändert aber meistens zu einem negativen Ausfall der Reaktion mit den übrigen PV2-Stämmen führt. Die Ausnahmen

zeigen, daß nicht nur eine oder mehrere allen PV2-Isolaten gemeinsame determinante Gruppen mit dem PV1-Serum reagieren, sondern auch spezifische Gruppen. Im Abschnitt Methodik wurde darauf hingewiesen, daß bei der Vorbehandlung der Seren der Absättigungspunkt nicht genau bestimmt worden ist und dadurch ohne Zweifel eine stärkere Serumverdünnung eingetreten ist, als notwendig gewesen wäre. Wahrscheinlich wären bei einer sorgfältigeren Bestimmung und der damit verbundenen geringeren Serumverdünnung noch weitere Reaktionen des PV1-Serums nach Absättigung mit PV2-Isolaten beobachtet worden. Das gleiche dürfte für die Reaktionen der abgesättigten PV2-Seren mit PV1 gelten. Um die Beziehungen zwischen PV1 und PV2 noch weiter zu klären, dürften ergänzende serologische Untersuchungen mit anderen PV1-Isolaten angebracht sein.

Wie schon erwähnt, entspricht die Reihenfolge der Viren bzw. Seren in der Tabelle ungefähr dem Grad der Verwandtschaft der PV2-Isolate. Allerdings lassen sich nicht alle Einzelergebnisse ganz zwanglos in ein derartiges Schema einordnen. Die beiden Endglieder der Reihe L 778 und WK zeigen die geringste Verwandtschaft. Der Titer des L 778-Serums gegen WK entspricht nur $^1/_{62}$ des homologen Titers, und umgekehrt erreicht der Titer des WK-Systems gegen L 778 nur $^1/_{75}$ des homologen Wertes. Eine teilweise Sonderstellung des Isolates L 778 läßt sich daran erkennen, daß eine Vorbehandlung des L 778-Serums mit allen drei übrigen Isolaten den homologen Titer nur wenig herabsetzt. Auffallend ist ferner, daß die Vorbehandlung der übrigen Seren mit L 778 den gleichen Titer für die Isolate Am, EV 500 und WK ergibt.

Die Berechtigung der vorgenommenen Eingruppierung des Stammes Am ist besonders ersichtlich aus den Reaktionen seines Antiserums nach Vorbehandlung mit P 487. Aber auch die Absättigungsversuche mit EV 500 und WK rechtfertigen die Einordnung. Es könnte der Einwand erhoben werden, daß das Am-Serum keine einwandfreie Eingruppierung des Virus gestatte, weil hochtitrige Seren sich anders verhalten als Seren mit niedrigem Titer. Dieser Einwand wäre aber nicht berechtigt, weil die Reaktionen der mit Am vorbehandelten übrigen Antiseren zu dem gleichen Ergebnis führen.

Die Stellung von EV 500 in die Nachbarschaft von WK ergibt sich vor allem aus den Reaktionen seines Antiserums nach Vorbehandlung mit Am und WK. In die gleiche Richtung deutet, daß L 778-Serum und Am-Serum nach Absättigung mit EV 500 nicht mehr mit WK reagieren.

Die serologische Differenzierung steht mit einigen von uns durchgeführten Infektionsversuchen insofern im Einklang, als sich die Isolate L 778 und Am auf die Sorte Top crop von *Phaseolus vulgaris* verimpfen lassen, während dies bei EV 500 und WK nicht gelang. Ein Vergleich der Symptomausbildung auf *Vicia faba* (Sorte Lohmann's Wehnder) zeigt ebenfalls ein ähnliches Verhalten von einerseits L 778 und Am sowie andererseits von EV 500 und WK (s. Abb. 1 u. 2). Diese Befunde bestätigen unveröffentlichte Untersuchungen von QUANTZ mit PV2-Isolaten, darunter L 778 und EV 500. Das Isolat EV 500 unterscheidet sich u. a. in seinem Verhalten auf Buschbohnen auch dort deutlich von Isolaten des Types L 778.

Möglicherweise stehen die beobachteten serologischen Unterschiede damit in Zusammenhang, daß die Isolate ursprünglich von verschiedenen Wirtspflanzen gewonnen wurden. Während unserer Versuche wurden die Isolate zum größten Teil mehrere Jahre lang auf den selben Wirtspflanzen kultiviert, ohne daß sich die unterschiedlichen Eigenschaften in erkennbarer Weise veränderten. Sie sind deshalb nicht als sehr labil und durch das Milieu ohne weiteres beeinflußbar anzusehen.

Abb. 1. Symptomausbildung des Isolates L 778 auf *Vicia faba* (Sorte Lohmanns Wehnder)

Abb. 2. Symptomausbildung des Isolates EV 500 auf *Vicia faba* (Sorte Lohmanns Wehnder)

Zusammenfassung

Vier ursprünglich von verschiedenen Wirtspflanzen isolierte Stämme des *Phaseolus*-Virus 2 und ein Isolat des *Phaseolus*-Virus 1 wurden hinsichtlich ihrer serologischen Verwandtschaft geprüft. Eine Differenzierung der Isolate des *Phaseolus*-Virus 2 gelang unter Verwendung partiell gereinigter Viruspräparate. Rohe bzw. nur niedrigtourig zentrifugierte Pflanzensäfte erwiesen sich wegen der schwankenden und oftmals zu niedrigen Viruskonzentration als ungeeignet. Unterschiede zwischen den Isolaten ließen sich teilweise schon beim Vergleich der homologen und heterologen Titer erkennen. Die zwei am stärksten unterscheidbaren Stämme ergaben bei Überkreuzreaktionen nur $^1/_{62}$ bzw. $^1/_{75}$ der homologen Titer. Auf Grund von Absorptionsversuchen konnten alle vier Isolate differenziert werden (s. Tab.). Infektionsversuche und ein Vergleich der Symptomausprägung ermöglichten ebenfalls eine teilweise Unterscheidung der Isolate.

Überkreuzreaktionen zwischen *Phaseolus*-Virus 1 und *Phaseolus*-Virus 2 bestätigten die Verwandtschaft der beiden Viren. Die Reaktionen des *Phaseolus*-Virus 1-Serums deuteten auf eine verhältnismäßig nahe Verwandtschaft, während die Reaktionen der *Phaseolus*-Virus 2-Seren und Absorptionsversuche nur geringe Beziehungen zeigten.

Summary

Serological investigations on the differentiation of isolates of *Phaseolus* virus 2 and its relationship to *Phaseolus* virus 1

Four strains of *Phaseolus* virus 2 originally isolated from different host plants and an isolate of *Phaseolus* virus 1 were tested in respect of their serological relationship. Differentiation of the isolates of *Phaseolus* virus 2 was possible on using partially purified virus preparations. Crude plant extracts or those that had been centrifuged at low rotation frequencies were unsuitable because the virus concentration fluctuated and was often too low. Differences between the isolates were often detectable to a certain extent from a comparison of the homologous and heterologous titres. The two strains that were most strongly differentiated gave only $^1/_{62}$ or $^1/_{75}$ of the homologous titres in cross reactions. All four isolates could be differentiated on the basis of absorption tests (see Table). Infection experiments and a comparison of the expression of the symptoms also permitted a partial distinction between the isolates.

Cross reactions between *Phaseolus* virus 1 and *Phaseolus* virus 2 confirmed the relationship between the two viruses. The reactions of *Phaseolus* virus 1 serum indicated a relatively close relationship whereas the reactions of *Phaseolus* virus 2 sera and absorption tests showed relatively slight relationships.

Fräulein G. Querfurth danke ich vielmals für die Durchführung der Versuche sowie für die Hilfe bei der Auswertung.

Literaturverzeichnis

1. Beemster, A. B. R., and J. P. H. van der Want, 1951: Serological investigations on the *Phaseolus* viruses 1 and 2. Antonie van Leeuwenhoek **17**, 285—296.
2. Bercks, R., 1959: Serologische Untersuchungen über das *Phaseolus*-Virus 1. Phytopath. Z. **35**, 105—118.
3. Chester, K. St., 1936: Separation and analysis of virus strains by means of precipitation tests. Phytopathology **26**, 778—785.
4. Corbett, M. K., 1956: Serological and morphological relationships of plant viruses. Florida agricultural experiment stations, Annual Report 1956, 117—118.
5. Goodchild, D. J., 1956: Relationships of legume viruses in Australia. II. Serological relationships of bean yellow mosaic virus and pea mosaic virus. Austr. J. Biol. Sci. **9**, 231—237.
6. van Koot, I. J., D. H. van Slogteren, M. C. Cremer en J. Camfermann, 1954: Virusverschijnselen in Freesias. T. Pl.ziekten **60**, 157—192.
7. Matthews, R. E. F., 1957: Plant virus serology. Cambridge, University Press.
8. Roland, G., 1958: Note sur une mosaique de la féverole (*Vicia faba*). T. Pl.ziekten **64**, 396—398.
9. Tinsley, T. W., 1957: Virus diseases of leguminous plants. Report Rothamsted, Exp. Stat., 1956, 103.

Research Institute for Plant Protection, Budapest

Triphenyltetrazolium chloride tolerance of phytopathogenic bacteria

By

L. Lovrekovich and Z. Klement

With 2 figures

Triphenyltetrazolium chloride (TTC) has been widely used in microbiology since its first application as an indicator dye in 1941 (Kuhn and Jerchel). The bacteria growing on TTC-containing media reduce the leuco compound to insoluble red formazan and the colonies consequently appear in reddish colour. However, it turned out very soon that the dye is toxic to the bacterial cells. Thus it has been found by Wundt (1950) and later by Weinberg (1953) that TTC even in relatively low concentrations might inhibit the development of some bacteria, whereas others possess a fairly high degree of tolerance against this compound. This finding served as a basis for the present studies on the TTC tolerance of phytopathogenic bacteria. The aim of the present work was to find out in how far the extent of TTC tolerance may be used as a constant character in the taxonomy of these bacteria.

The TTC tolerance of bacteria was first investigated in broth. However, the liquid media proved unsuitable for the study of the problem outlined above. Namely it has been found that some strains exhibited striking differences in parallel investigations as far as their TTC tolerance is concerned. These discrepancies are certainly due to the fact that a small number of TTC resistant cells are contained by the inocula and these are able to multiply rapidly in liquid media.

Even in the case of solid media some variation was found in repeated experiments. Since, however, the extent of these variations was less then that in broth, nutrient-agar was used throughout the experiments. The agar-containing media were prepared as follows:

A 5 % stock solution in distilled water of TTC[1]) was prepared and sterilized by filtration. Various amounts of TTC were added to nutrient-agar pH 7.2 cooled down to 50 °C to obtain the following final concen-

1) Hungarian product (Reanal Chemical Co.).

trations of TTC: 0.01, 0.02, 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 per cent. The culture medium poured into Petri dishes was inoculated with bacteria grown in shaken broth cultures (roller tube culture) for 24 hr. Each inoculum contained approximately 3×10^6 cells (one loop). By this method it was possible to inoculate 16—20 different bacterium strains onto a single Petri dish (Fig. 1). The inoculated Petri dishes were kept for 4 days at 28 °C and the development of bacteria was checked every day.

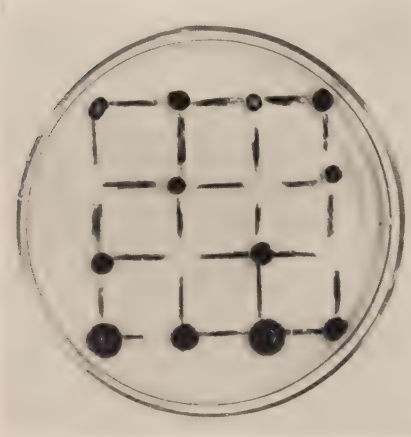


Fig. 1. 48-hr culture of 16 different bacterial strains on TTC containing media. The development of 4 strains was inhibited by TTC

Abb. 1. Kultur von 16 verschiedenen Bakterienstämmen auf TTC-enthaltenden Nährböden nach 48 Stunden. Die Entwicklung von 4 Stämmen wurde von TTC gehemmt

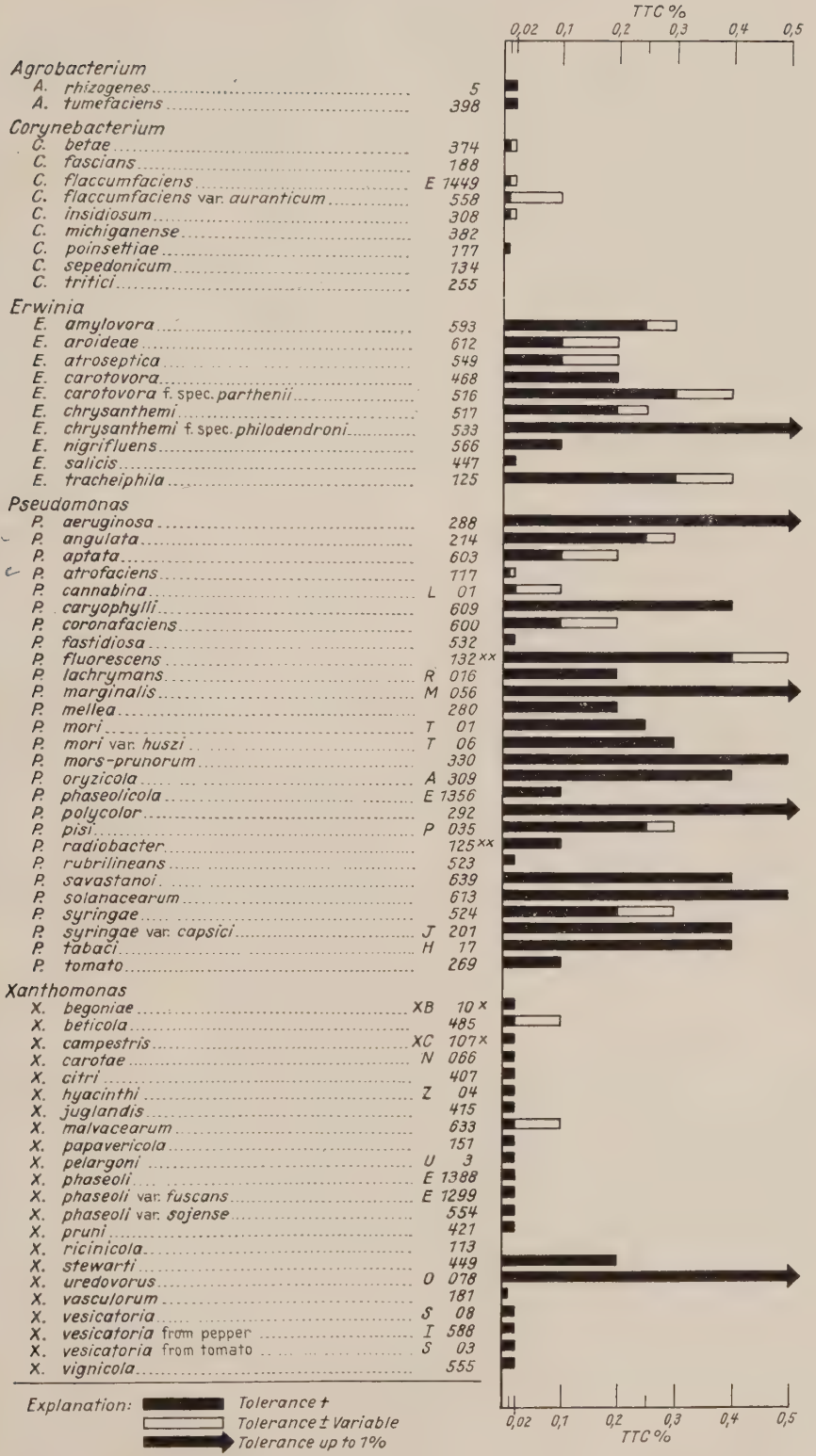
128 bactererial strains belonging to 70 species and varieties respectively were included in the experiments (2 *Agrobacterium*, 9 *Corynebacterium*, 10 *Erwinia*, 27 *Pseudomonas* and 22 *Xanthomonas* species). In addition to the phytopathogenic bacteria the TTC tolerance of 3 non phytopathogenic *Pseudomonas* strains was also investigated. The results obtained with the 70 strains are summarized in figure 2.

The strains marked with letters and numbers are our own isolations, whereas those only marked with numbers have been obtained from the National Collection of Plant Pathogenic Bacteria, England. Strains marked with × were kindly supplied by M. P. STARR DAVIS, California and those marked with ×× by G. PÁNTOS, Sopron, Hungary.

In addition to the strains included in figure 2 studies were undertaken on 45 *P. tabaci*, 6 *C. flaccumfaciens*, 3 *X. vesicatoria*, 2 *P. mori*, 1 *P. cannabina*, 1 *P. radiobacter* strains as well which were isolated at different parts of our country. The aim of these investigations was to establish the extent of variation of TTC tolerance of different strains within various species. Since no difference in the behaviour of various strains belonging to the same species was found, the corresponding data have been omitted from the diagram.

It may be seen from figure 2 that the different bacterium species belonging to various genera can be divided into two main groups as far as

Fig. 2. TTC tolerance of phytopathogenic bacteria
Abb. 2. TTC-Toleranz von phytopathogenen Bakterien


TTC %
0,02 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5
Agrobacterium
A. rhizogenes 5
A. tumefaciens 398
Corynebacterium
C. betae 374
C. fascians 188
C. flaccumfaciens E 1449
C. flaccumfaciens var. auranticum 558
C. insidiosum 308
C. michiganense 382
C. poinsettiae 177
C. sepedonicum 134
C. tritici 255
Erwinia
E. amylovora 593
E. aroideae 612
E. atroseptica 549
E. carotovora 468
E. carotovora f. spec. parthenii 516
E. chrysanthemi 517
E. chrysanthemi f. spec. philodendroni 533
E. nigrifluens 566
E. salicis 447
E. tracheiphila 125
Pseudomonas
P. aeruginosa 288
P. angulata 214
P. aptata 603
P. atrofaciens 777
P. cannabina L 01
P. caryophylli 609
P. coronafaciens 600
P. fastidiosa 532
P. fluorescens 132 xx
P. lachrymans R 016
P. marginalis M 056
P. mellea 280
P. mori T 01
P. mori var. huszi T 06
P. mors-prunorum 330
P. oryzicola A 309
P. phaseolicola E 1356
P. polycolor 292
P. pisi P 035
P. radiobacter 125 xx
P. rubrilineans 523
P. savastanoi 639
P. solanacearum 613
P. syringae 524
P. syringae var. capsici J 201
P. tabaci H 17
P. tomato 269
Xanthomonas
X. begoniae XB 10 x
X. beticola 485
X. campestris XC 107 x
X. carotae N 066
X. citri 407
X. hyacinthi Z 04
X. juglandis 415
X. malvacearum 633
X. papavericola 151
X. pelargoni U 3
X. phaseoli E 1388
X. phaseoli var. fuscans E 1299
X. phaseoli var. sojense 554
X. pruni 421
X. ricinicola 113
X. stewarti 449
X. uredovorus O 078
X. vasculorum 181
X. vesicatoria S 08
X. vesicatoria from pepper I 588
X. vesicatoria from tomato S 03
X. vignicola 555
Explanation:
Tolerance +
Tolerance ± Variable
Tolerance up to 1%
0,02 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5
TTC %

their TTC tolerance is concerned. One group is characterised by a fairly low TTC tolerance: *Agrobacterium, Corynebacterium* and *Xanthomonas* spp. Bacteria belonging to the other group are able to multiply in the presence of higher TTC concentrations: *Erwinia* and *Pseudomonas* spp.

It seems remarkable that the *Pseudomonas* and *Xanthomonas* species taxonomically closely related to each other, exhibit striking differences in their TTC tolerance.

DOWSON (1957), in the recent edition of his book, classifies the *Agrobacterium* spp. as belonging to the *Erwinia* genus, nearly related to the colitype bacteria. On the basis of TTC tolerance, however, the above genera can be easily distinguished.

It can also be seen from figure 2, that within the various genera some species exhibit high TTC tolerance, whereas others are characterized by a pronounced TTC sensitivity. This property of the species proves very useful in their determination. For example, the present studies on TTC tolerance supported the idea of a number of authors as to the close relationship of *P. aeruginosa, P. polycolor* and *P. marginalis* (MEHTA and BERRIDGE 1924, ELROD and BRAUN 1941, 1942).

Within the *Xanthomonas* genus the pronounced TTC tolerance of *X. stewarti* and *X. uredovorus* is remarkable. These two species differ from the other members of the genus *Xanthomonas* in additional, morphological. and biochemical characteristics too (STARR and WEISS 1943, STAPP 1956, DOWSON 1957). Therefore, *X. stewarti* is regarded by ELLIOTT (1951) and STAPP (1956) as belonging to the genus *Bacterium.* As far as *X. uredovorus* (PON et al. 1954) is concerned, it should be stressed that no *Xanthomonas* species are known to attack salicin except *X. uredovorus.* In addition to this biochemical property, *X. uredovorus* differs from the other *Xanthomonas* in its inability to hydrolyze starch and in the colour of its colonies, and last but not least in being a parasite of a fungus and not of higher plants. All these data taken together draw our attention to the fact that the two species in question do not share the typical properties of *Xanthomonas.*

Summary

The growth of 70 phytopathogenic bacteria belonging to 5 genera was studied on TTC containing solid media. On the basis of TTC sensitivity the genera investigated could be divided into two groups. The *Agrobacterium, Corynebacterium* and *Xanthomonas* spp. proved highly sensitive to TTC whereas the *Erwinia* and *Pseudomonas* spp. exhibited a fairly high degree of TTC tolerance. The degree of TTC tolerance is characteristic of genera and especially of some species; consequent studies on TTC sensitivity provide useful data for the classification and identification of phytopathogenic bacteria.

Thanks are due to associated professor B. JÁMBOR for his help in the above investigations.

Zusammenfassung

Toleranz von Triphenyl-tetrazoliumchlorid bei phytopathogenen Bakterien

Bei 70 phytopathogenen Bakterien aus 5 verschiedenen Gattungen wurde das Wachstum auf festen TTC-enthaltenden Nährböden untersucht. An Hand der Empfindlichkeit gegenüber TTC konnten die untersuchten Gattungen auf zwei Gruppen verteilt werden. Die *Agrobacterium-*, *Corynebacterium-* und *Xanthomonas*-Arten erwiesen sich als hochempfindlich gegenüber TTC, die *Erwinia-* und *Pseudomonas*-Arten hingegen besitzen eine ziemlich hohe Toleranz. Der Toleranzgrad gegenüber TTC ist für die Gattungen und insbesondere für einige Arten charakteristisch; infolgedessen können Untersuchungen über TTC-Empfindlichkeit wertvolle Beweise für die Klassifizierung und Identifizierung der phytopathogenen Bakterien bieten.

Herrn Professor B. Jámbor sprechen wir für seine Unterstützung in diesen Untersuchungen unseren besten Dank aus.

Literature cited

Dowson, W. J., 1957: Plant Diseases due to Bacteria. Cambridge Univ. Press.

Elliott, C., 1951: Manual of Bacterial Plant Pathogens. Waltham, Mass., USA.

Elrod, R. P., and A. C. Braun, 1941: A phytopathogenic bacterium fatal to laboratory animals. Science N. S. **94**, 520—521.

— —, and — —, 1942: *Pseudomonas aeruginosa*; its role as a plant pathogen. J. Bact. **44**, 633—644.

Kuhn, R., und D. Jerchel, 1941: Invertseifen, VIII. Mitt. Reduktion von Tetrazoliumsalzen durch Bakterien, gärende Hefe und keimende Samen. Ber. Dtsch. Chem. Ges. **74**, 949—952.

Mehta, M. M., and E. M. Berridge, 1924: Studies in bacteriosis. XII. *B. pyocyaneus* as a cause of disease in lettuce and the identity of *B. marginale* with this organism. Ann. Appl. Biol. **11**, 318—323.

Pon, D. S., C. E. Towsend, G. E. Wessman, C. G. Schmidt and C. H. Kingsolver, 1954: A *Xanthomonas* parasitic on *Uredia* of cereal rusts. Phytopath. Z. **44**, 707—710.

Stapp, C., 1956: Bakterielle Krankheiten. In Sorauer, Bd. **2**, 2. Lfg., 6. Auflg. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg.

Starr, M. P., and J. E. Weiss, 1943: Growth of phytopathogenic bacteria in a synthetic asparagine medium. Phytopathology **33**, 314—318.

Weinberg, E. D., 1953: Selective inhibition of microbal growth by the incorporation of triphenyl tetrazolium chloride in cultural media. J. Bact. **66**, 240—242.

Wundt, W., 1950: Untersuchungen über die Reduktionswirkung von Bakterien auf Triphenyl-tetrazoliumchlorid. Dtsch. med. Wschr. **75**, 1471—1472.

Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Sapporo, Japan

Some factors affecting the death of hypersensitive potato plant cells infected by *Phytophthora infestans*[1])

By

K. Tomiyama

With 9 figures

1. INTRODUCTION

The first precise observations on the process of infection in the potato cells by *Phytophthora infestans* were made by Meyer (1940), and Müller and Meyer (1941). Recently, cyto-physiological studies on the degeneration process in potato-plant cells infected by incompatible (non-pathogenic) race of *Phytophthora infestans* have been carried out (Tomiyama et. al. 1954 to 1957, Yamamoto 1957). When the midrib cells of potato plants were penetrated by an incompatible race of *Phytophthora infestans*, more protoplasmic strands appeared, and the nucleus migrated toward the infected part during the early stages of penetration. The number of protoplasmic strands in which particles flow toward the point of infection is significantly greater than those in which the cyto-particles flow in the opposite direction. It was concluded from these observation that the motive force for protoplasmic streaming may be enhanced by the penetration, and it may be stronger in the direction toward the site of infection than in the contrary direction (Tomiyama 1956). The migration of the nucleus toward the site of infection was also attributed to this polarity of the motive force. Following the acceleration, the frequency of the appearance of protoplasmic strands begins to decrease gradually, and they disappear finally. When their appearance is about to stop, rod-shaped particles in Brownian motion appear in the cells and increase in number in a meanwhile. Finally the nucleus shrinks suddenly and turns pale yellowish. Later the whole cells gradually became yellowish, and the color then deepened.

If cells susceptible to the fungus were inoculated, the changes in the host cells appeared much later, although the time required for penetration of

1) Cell physiological studies on resistance of potato plants to *Phytophthora infestans* IX.

susceptible cells was about the same as that for resistant cells (Tomiyama 1954, 1956).

It was demonstrated by means of vital staining with neutral red, that the intra-cellular hyphae were still alive after the death of the hypersensitive resistant cells (Tomiyama 1955). In order to learn whether or not the initial rate of growth of intra-cellular hyphae in resistant cells is different from that in susceptible ones, experiments were carried out in the cortex cells of petioles (Tomiyama 1957). The results showed that there were no differences in hyphal growth rate in resistant cells and susceptible cells for about four hours after penetration. In these cells about fifty per cent of the infected cells died about 8—15 hours after infection as shown in the present paper.

From the observation on the process of browning after the death of the infected cells, it was presumed that the continuous deposition of the polyphenol compounds and the other materials may result in the gelation of the cell contents, the sealing up of the hyphae and finally their death. Successive microscopic observation showed that when a part of the hyphae sealed up in the browned cell touches the cell wall of an adjacent healthy cell, it often can develop into that cell, but cannot grow in the browned cell (Tomiyama 1955). This suggests the important role of mechanically sealing-up of hyphae into the browned cell and this seems to require further experiments before the toxin-theory can be completely accepted, although there seems to be little doubt as to the importance of toxin materials produced in the necrogenous region. It was also concluded that about ten neighbouring cells seemed indispensable to complete the defence reaction which may involve the process of repairing the infected loci (Tomiyama, Takakuwa and Takase 1958).

From these results it was concluded that one of the most important cytophysiological phenomena in an initial period of inefction of potato plant cells by incompatible races of *Phytophthora infestans* is the death of hypersensitive host cells.

In order to determine if there is a relationship between metabolic activity, which is related to the accelerated cytoplasmic movements, and hypersensitive-death, 2.4-DNP an inhibitor of the cytoplasmic streaming, was applied to the cells inoculated beforehand with incompatible races. The cell-death was delayed remarkably by this treatment (Tomiyama 1957). In this experiment, however, 2.4-DNP also affected the parasite. Therefore, in the next experiment (Tomiyama 1957), the cells first were treated in hot water, which depressed the respiration significantly, and then were inoculated with an incompatible race of *Phytophthora infestans*. The hypersensitive death of the treated host cells was also delayed remarkably. In this case no difference was observed in the initial growth rate of the intra-cellular hyphae between treated and untreated cells. These results suggested that the metabolically active cells usually died sooner after infection by an incompatible race of *Phytophthora infestans* than did metabolically inactive cells.

In this report, further evidence is given on the relation between the hypersensitive death and the status of the cytoplasm which is supposed to be in higher metabolic activity. In addition, the time for the hypersensitive

death of cortex cells of each variety of potato plant caused by infection by *Phytophthora infestans* was examined.

2. METHODS AND MATERIALS

The inoculation methods in the present experiments were the same as in those in the preceding paper (TOMIYAMA 1957). A potato leaf petiole was cut longitudinally with a razor, and washed with running water for a short period in order to eliminate the contents of the destroyed cells. Almost all of the cells of the cut surface were alive when viewed microscopically, using neutral-red staining and protoplasmic streaming as criteria. The petioles were kept in a Petri dish in an incubator at 19 °C. After prescribed intervals, they were taken from the incubator and inoculated with a zoospore suspension of *Phytophthora infestans*. The spores were obtained from the mycelium mat grown on the cut surface of fresh potato tubers.

The potato varieties used were Hokkai No. 10 (R_1), Kennebec (R_1), Hokkai No. 17 (R_4), Shimakei No. 278 (R_4) and 41089—8 (R_1R_4). The isolates of *Phytophthora infestans* tested were H_{101} (race 0), H_3 (race 1, 2), H_{103} (race 1) and H_{107} (race 1, 2, 4). The relationships between these varieties and races are shown in Table 1.

Table 1

Comparison of the time required for hyper-sensitive death of the fifty per cent of the potato petioles cortex-cells caused by the invasion of *Phytophthora infestans* among varieties of the potato plant

Varieties	Geno-types	Time in hours for hyper-sensitive death of fifty per cent of total cells observed				Types of resistance of each varieties to race 0 **
		race 0	race 1	race 4	rase 1.2.4	
Hokkai No. 10	R_1	10 (R)*	> 23 (S)	— (R)	— (S)	Very strong
Kennebec	R_1	11 (R)	> 32 (S)	— (R)	— (S)	strong
Hokkai No. 17	R_4	18 (R)	— (R)	29 (S)	— (S)	weaker than R_1
Shimakei 278	R_4	19 (R)	— (R)	— (S)	> 30 (S)	weaker than R_1
41 089—8	R_1R_4	12 (R)	— (R)	— (R)	> 30 (S)	very strong

Remarks: These cells were inoculated with *Phytophthora infestans* immediately after a short wash following cutting.
* phenotypic expression.
** TAKASE (1957).

After inoculation, the petioles were kept in an incubator at 19 °C. Periodically microscopic sections were made from the inoculated materials. The time required for the penetration of the host cell by the parasite was determined by periodic microscopic observations of the sections. From the graph obtained by plotting the percentages of penetrated cells per total cells attacked by appressoria as ordinate and time as abscissas (see fig. 1), the

time for penetration was deduced. The death of the infected cells were determined microscopically by using vital staining with neutral red and protoplasmic streaming as criteria. A few cells did not stain with neutral red and had no visible protoplasmic streaming, although these unstained cells appeared to be alive and have normal cytocomponents when studied microscopically. These cells were listed as the living cells while counting percentages of cell-death, although it is not certain whether they were alive or not. This uncertainty in judging the death of cells had little effect on the results, because cells of this type were few in number.

These experiments were carried out in the years from 1956 to '57.

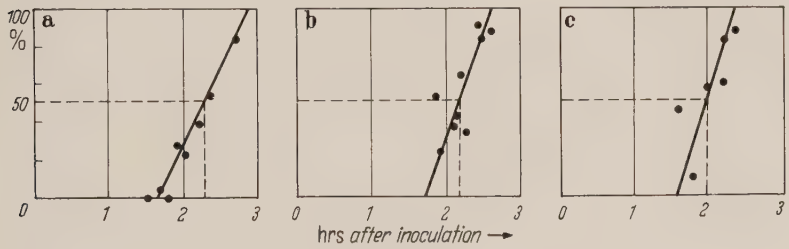


Fig. 1. The effect of varying period, while the cut-exposed cortex-cell surface of the potato leaf petioles were kept in air before inoculation, upon the time required for penetration of cell wall of them by *Phytophthora infestans*. Ordinates: Percentages of penetrated cells per total cells attacked by appressoria. Abscissas: time. Variety of potato plant: Hokkai No. 10 (R_1).
Race of *Phytophthora infestans*: race 0.
a: Inoculated soon after cutting. b: Inoculated 12—14 hrs. after cutting.
c: Inoculated 18—19 hrs. after cutting

3. RESULTS

The time required for penetration of the cell wall by each races of *Phytophthora infestans* were shown in Fig. 1 and 2. It was found that the fungus penetrated the cell walls of the cut surface cortex cell of the petioles of younger leaves more rapidly than those of the older petioles. An example is shown in Fig. 2. Such a tendency was found in each variety used in these experiments.

The effect of varying the period that the cut-exposed cortex cells were kept in air after a short wash following cutting, upon the time required for penetration are shown in Fig. 1. These data show that the parasite penetrated the cell walls of the petiole cells kept for a l o n g time in air sooner than those of the cells kept in air for a s h o r t time. About the same tendency was found in the potato tuber slices in another experiment. Since the difference observed seems to fall into the range of experimental errors, it is hard to draw a definite conclusion. It seems necessary to clarify this relationship by future experimentation. For the purpose of the present experiments, however, the difference seems negligible compared with the length of time to

be discussed. Fig. 2 also shows that there seems to be no difference in the time required for penetration between compatible and incompatible races.

The time elapsed from the penetration to death of the host cells is shown in Fig. 3—7. It was remarkably shorter in the cells infected by incompatible race than in those infected by compatible races. This early death of a host cell has been called hypersensitive-death.

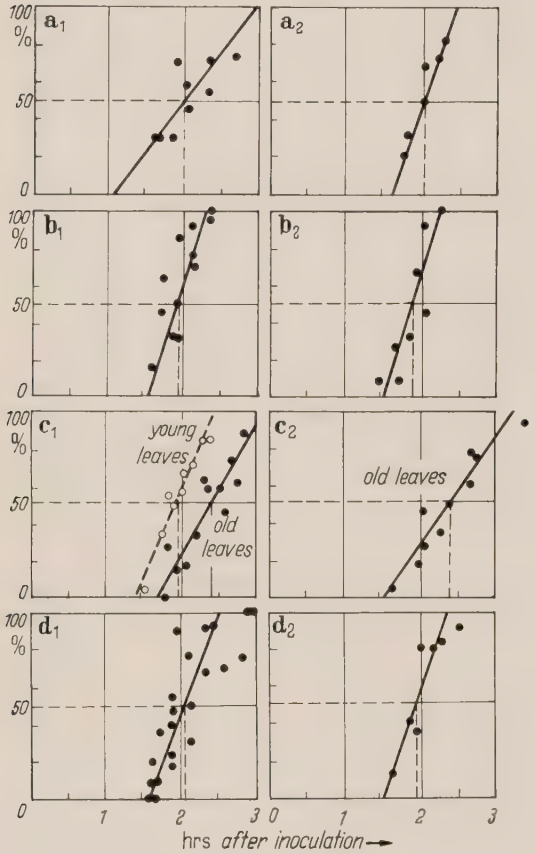


Fig. 2. The time required for penetration of the cell wall by each race of *Phytophthora infestans*. Cells were inoculated soon after a short wash following cutting. Ordinates: percentages of penetrated cells per total cells attacked by appressoria. Abscissas: time.

a_1: Cut surfaces of the petioles of the variety Kennebec (R_1) were inoculated with race 0 (Resistant).

a_2: The same ones as above were inoculated with race 1 (Susceptible).

b_1: Cut surfaces of the petioles of the variety Shimakei (R_4) were inoculated with race 0 (Resistant).

b_2: The same ones as above were inoculated with race 1, 2, 4 (Susceptible).

c_1: Cut surfaces of the petioles of the variety Hokkai No. 17 (R_4) were inoculated with race 0 (Resistant).

c_2: The same ones as above were inoculated with race 4 (Susceptible).

d_1: Cut surfaces of the petioles of the variety 41 089—8 ($R_{1,4}$) were inoculated with race 0 (Resistant).

d_2: The same ones as above were inoculated with race 1, 2, 4 (Susceptible)

It is clearly shown in figures 3 and 4 that the hypersensitive-death of host cells infected by incompatible races is hastened remarkably by keeping the cut-exposed cortex cells in air for about 5 or more hours before inoculation. Especially in the case of Hokkai No. 10 (Fig. 3), the infected cells seem to die soon after penetration, when inoculated after being kept in air for several hours. Microscopic observations showed, in the case of enhanced hypersensitive death, that after penetration the active protoplasmic streaming slows down, finally disappears, and then the cytoplasm becomes partly granular. In the process of time whole cells become granular, and they lost their stainability with neutral red (Fig. 9). On the other hand, in the cells inoculated with an incompatible race soon after cutting, the streaming con-

tinues for a few hours after being penetrated, and the process of cell-death usually occurs about 6—13 hours after penetration.

In cells infected by a compatible race of *Phytophthora infestans*, no such acceleration of the cell-death by keeping the cut-exposed cells in air before inoculation was observed.

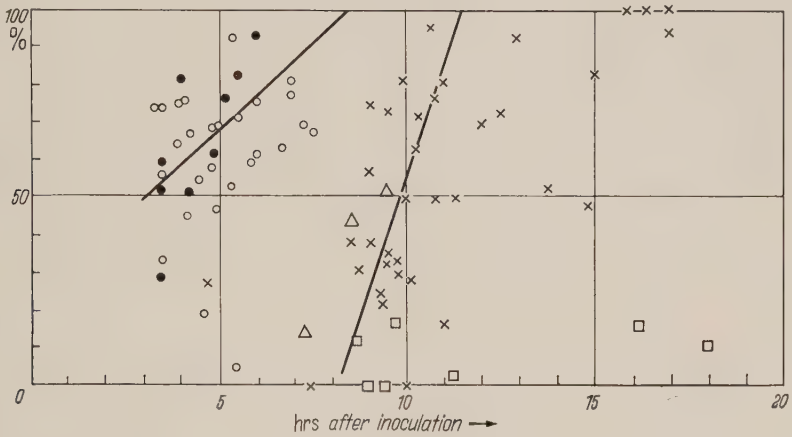


Fig. 3. Effect of varying time, while the cut-exposed cortex-cell surfaces of potato leaf petioles were kept in air before inoculation, on the time elapsed from the penetration of them by *Phytophthora infestans* to hypersensitive death. Variety used is Hokkai No. 10 (R_1).

Ordinates percentages of cell-death per total observed cells infected.
× Inoculated with race 0, soon after a short water wash following cutting.
△ Inoculated with race 0, 2 hrs. after a short water wash following cutting.
○ Inoculated with race 0, 5 hrs. after a short water wash following cutting.
● Inoculated with race 0, 13 hrs. after a short water wash following cutting.
□ Inoculated with race 1, 13—18 hrs. after a short water wash following cutting.

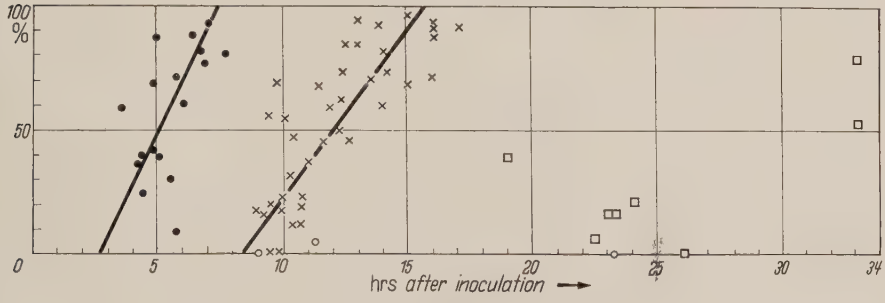


Fig. 4. Effect of varying time, while the cut-exposed cortex-cell surface of potato leaf petioles were kept in air before inoculation, on the time elapsed from the penetration of them by *Phytophthora infestans* to hypersensitive death (variety 41 089—8 ($R_{1.4}$).

Ordinate: percentages of cell death per total observed cells infected. Abscissas: time.
× Inoculated with race 0, soon after a short water wash following cutting.
● Inoculated with race 0, 5.5 hrs. after a short water wash following cutting.
□ Inoculated with race 1, 2, 4, soon after a short water wash following cutting.
○ Inoculated with race 1, 2, 4, 5.5 hrs. after a short water wash following cutting

Even in the cells of resistant varieties, the effect of the treatment is less in relatively mild sensitive ones than in highly sensitive ones (Fig. 7 and Table 1). As reported in a former paper (TOMIYAMA 1955), the death of the intra-cellular hyphae can be judged by means of vital staining with neutral red, particularly in the host cells which have died. Table 2 indicates that about ninety per cent of intra-cellular hyphae of an incompatible race were alive in the sections from tissues cut and exposed to air for several hours before inoculation. In other cells inoculated with an incompatible race soon after being cut and washed, the intra-cellular hyphae also were alive although the host cells died within about ten hours after penetration. In other cells which died later, on the contrary, it seems that more than half of the incompatible intra-cellular hyphae had already lost the stainability with the neutral red at the time of the death of fifty per cent of host cells. In this

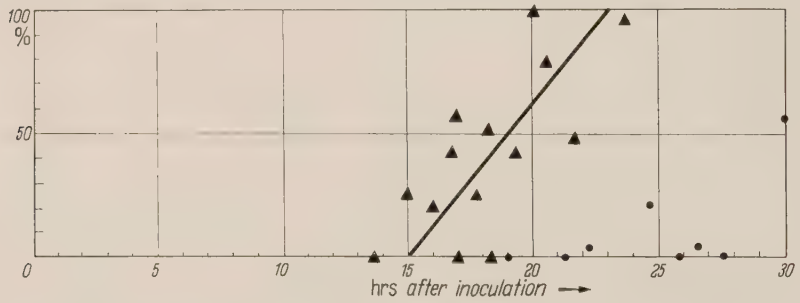


Fig. 5. The time required for hypersensitive death of the cut-exposed cortex-cell surface of potato leaf petioles caused by the infection with *Phytophthora infestans*. They were inoculated with zoospores soon after a short wash following cutting. Potato variety: Shimakei No. 278 (R_4).
Ordinate: percentages of cell death per total observed cells infected. Abscissa: time.
▲ Inoculated with race 0,
● Inoculated with race 1, 2, 4

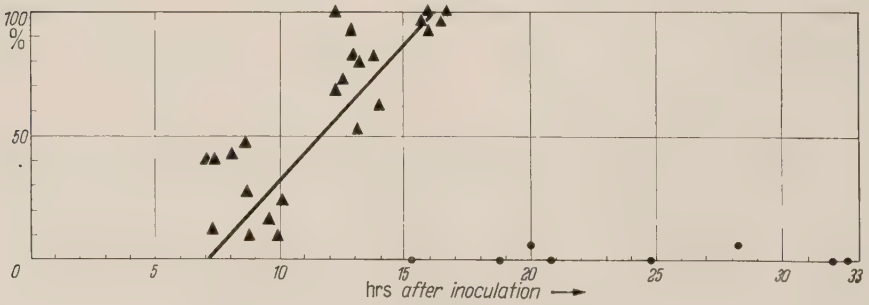


Fig. 6. The time required for hypersensitive death of the cut-exposed cortex-cell surface of potato leaf petioles caused by the infection with *Phytophthora infestans*. They were inoculated with zoospores soon after a short water wash following cutting. Potato variety used is Kennbec (R_1). Ordinate: percentages of cell-death per total observed cells infected.
▲ Inoculated with race 0,
● Inoculated with race 1

case, however, it takes a long time from the beginning of the cell-death in few cells to the death of fifty per cent of host cells. Therefore it does not necessarily show that about fifty per cent of intra-cellular hyphae have died at the time of the death of host cells, because the intra-cellular hyphae which are still alive at the beginning of the cell-death could die during that time.

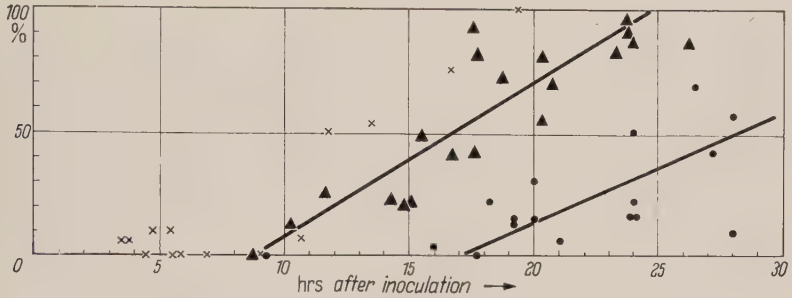


Fig. 7. The time required for hypersensitive death of the cut-exposed cortex-cell surface of potato leaf petioles caused by the infection with *Phytophthora infestans*. They were inoculated with a zoospore suspension soon after a short wash following cutting. Potato variety: Hokkai No. 17 (R_4).

▲ Inoculated with race 0, soon after a short wash following cutting (carried out in 1956),
× Inoculated with race 0, 12—13 hrs. after cutting (kept in air before inoculation) (carried out in 1957),
● Inoculated with race 4, soon after a short wash following cutting (carried out in 1956).

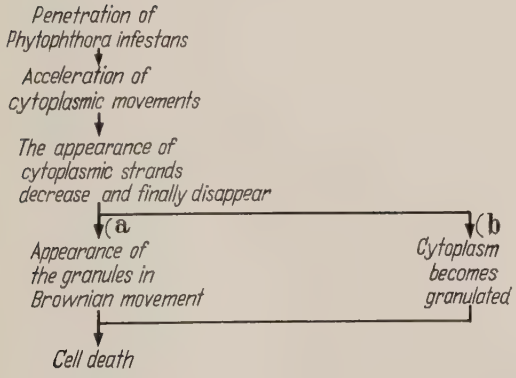
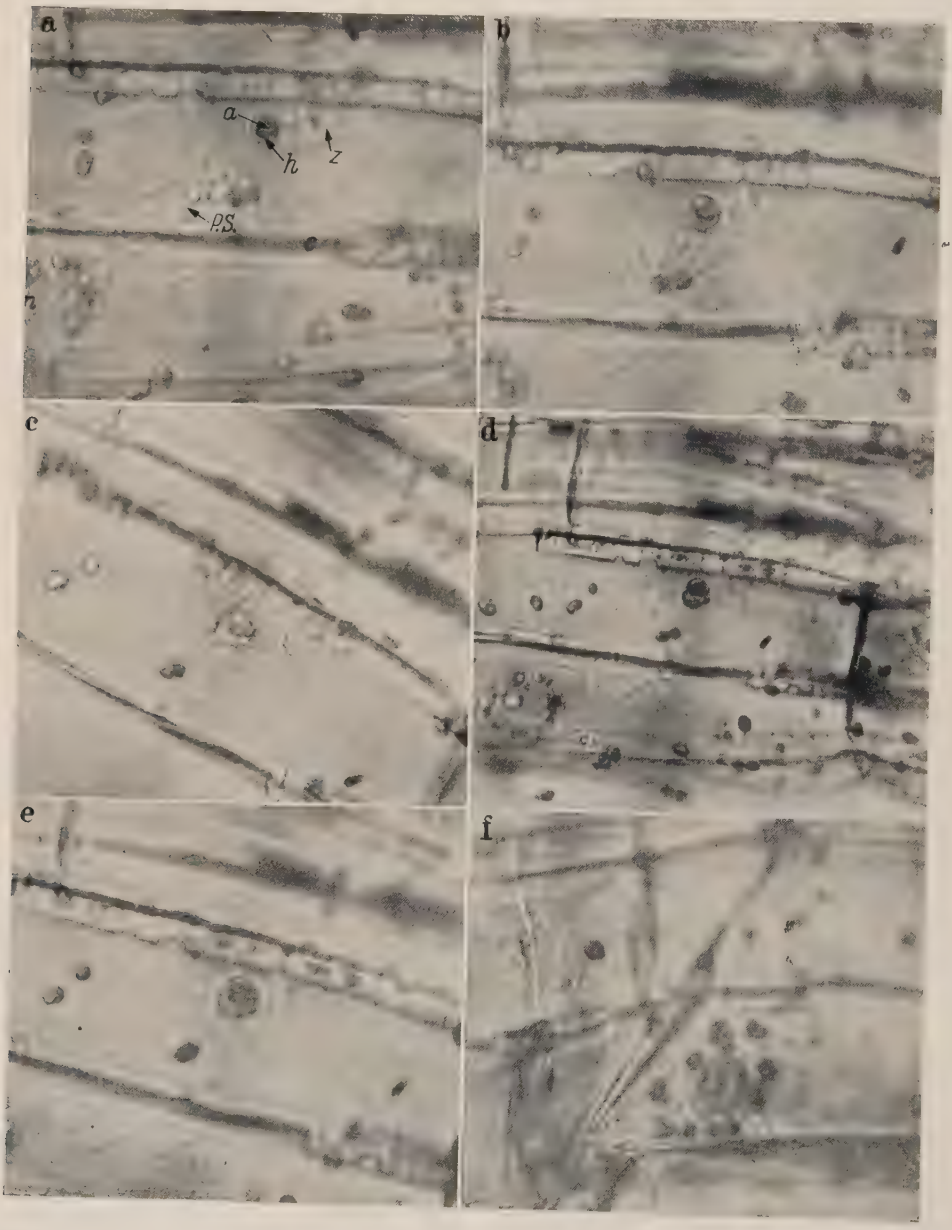


Fig. 8. The scheme of the process in hypersensitive death of potato plant cells infected by an incompatible race of *Phytophthora infestans*

IV. DISCUSSION

That hypersensitivity is an important phenomenon in disease resistance of various plants has been widely accepted. The present author (Tomiyama 1954—'56 and Takakuwa and Tomiyama 1957) measured the time required for hypersensitive death in resistant potato plant cells caused by the infection with incompatible and compatible *Phytophthora infestans* races. This led to the conclusion that the infected cells die remarkably earlier in the

resistant varieties than in susceptible ones. The results shown in Table 1 again confirmed that the more resistant the cells, the earlier they die. As described in the introduction, the death of intra-cellular hyphae usually follows the death of the host cells. Therefore it may be concluded that the hypersensitive death is one of the most important phenomena in the resistance of potato plants to *Phytophthora infestans*, and possibly in many cases of true resistance (GÄUMANN 1950).



The sequence of the cytological phenomena in the hypersensitive death against infection by *Phytophthora infestans* was supposed to occur according to the scheme shown in Fig. 8 (Course a). However, many subsequent mycroscopic observations carried out on cells other than epidermal midrib cells, especially on the cells of tuber and cortex of petioles, showed that in the process of hyper-sensitive death, the abundant rod-shaped particles seen in the epidermal midrib cells do not appear before cell death; instead of the cytoplasm became granulated (shown in course b in Fig. 8). The present experiments showed that, even in the case in which the hyper-sensitive cell-death was accelerated by means of keeping the cut-exposed cortex cells in air for several hours before inoculation, the process of hyper-sensitive cell-death takes the course b in Fig. 8. Accordingly there seem to be two different types of hypersensitive cell-death. One is the celldeath accompanied by the appearance of abundant rod-shaped particles in Brownian Movements and the other is that accompanied by granulation of the cytoplasm (Fig. 9). The former type of cell-death was always found in the epidermal cells of the midrib of young leaves; the latter one was found in the parenchymatous cells of potato tuber and the cortex cells of petioles.

The present experiments have shown that the hypersensitive death of the cut-exposed cortex cells is hastened by keeping them in air for several hours before inoculation.

Another series of experiments (Takakuwa, Tomiyama and Kato, unpublished), have shown the hypersensitive death of the cut-exposed parenchymatous cells of potato tubers was also hastened by keeping them in air overnight before inoculation. The rate of respiration and the amounts of organic phosphorous compounds and water soluble protein were increased in these tissues by the treatment. These facts suggest such a treatment as keeping the cut tissues in air accelerate their metabolic activity. It may be possible that the cells exposed by cutting are paralyzed by washing in water or by the cutting action itself. In a recent paper, Müller (1957) reported that the resistance of the cut tuber surface increases with increasing time

Fig. 9. Process of hypersensitive death of a potato plant cell caused by infection with *Phytophthora infestans* (race 0). The cut-exposed cortex-cell was inoculated with *Phytophthora infestans* 14 hrs. after cutting. These pictures were taken of the same cell under microscope at various time intervals as given in the following explanation.

a. 2 hr. 10 min. after inoculation.
   a: Appressorium.
   z: Cell wall of an empty zoospore (faint circle).
   h: Intracellular hyphae.
   c: Wall of the adjacent cell below the infected cell. Therefore infecting hyphae and nucleus are in the same cell.
   n: Nucleus.
   P.S.: Protoplasmic streaming.
b. 2 hr. 22 min. after inoculation.
c. 3 hr. 02 min. Protoplasmic streaming was still observed in inner part of the cell.
d. The same as above. Both the invading hyphae and nucleus are shown.
e. 3 hr. 40 min. after inoculation.
f. The same as above. The nucleus has shrunk and the cell wall wrinkled, because of loss of turgidity.

Table 2

Stainability of intracellular hyphae of Race 0 (incompatible) *Phytophthora infestans* in the hypersensitively died cells of potato plant petioles

Potato varieties	The time while the cut-exposed cells were kept in air before inoculation (Hrs.)	Hrs. after penetration*	Percentages of stained hyphae per total intra-cellular hyphae observed**	Total cells observed
Hokkai No. 10	5—5.5 hrs.	1— 3	99.3	211
		3— 5	88.5	154
		5— 7	97.1	44
	Soon after a short wash following cutting	5— 7	100	29
		7— 9	91.3	163
		9—11	86.8	20
41 089—8	5—5.5 hrs.	1— 3	93.2	50
		3— 5	88.4	96
		5— 7	88.1	28
	Soon after a short wash following cutting	7— 9	100	45
		9—11	58.0	24
		11—13	51.2	89
		13—16	51.5	70
Kennebec	5—5.5 hrs.	—	—	—
	Soon after a short wash following cutting	5— 7	100	33
		7— 9	9.9	30
		9—11	25.4	26
		11—12	44.35	41
		13—16	36.9	48
Shimakei No. 278	5—5.5 hrs.	—	—	—
	Soon after a short wash following cutting	12—15	60.9	23
		15—18	28.5	44
		18—22	47.7	104
		22—24	32.2	28

Remarks 1) * Under-lines show the time when about the half of the total observed cells had died.

2) ** Percentage of the cells containing stained hyphae per total observed cells containing hyphae.

3) The dead cells on which these observations were carried out involve both the cells which are unstainable with neutral red and have no signs of protoplasmic streaming and granulation, and the granulated and unstainable cells. The numbers of former type of cells were far less than the latter ones.

interval between injury and infection. He suggested that this increase in resistance may be attributable to (1) an increase in sensitivity towards parasite which is possibly related to the production of toxic principle and (2) the development of mechanical factor (possibly deposition of Suberin). In the case of the present experiments the speed of penetration of the cell wall by the parasite seems rather accelerated by the treatments, possibly due to the shorter time interval between injury and inoculation compared with that in MÜLLER's experiments. Therefore the second hypothesis of MÜLLER apparently is not applicable in the present experiments.

Former report (TOMIYAMA 1957 [a] [c]) have shown that the hypersensitive death of potato plant cells infected by the incompatible races of *Phytophthora infestans* was remarkably delayed by the post-infectional 2.4-DNP and pre-infectional heat treatment which are not fatal to the host cells. These treatments are well known to reduce the metabolic activity of the cells.

The results of the current experiments indicate that the hypersensitive death usually takes place very quickly in the metabolically active cells and were slowly in the inactive ones.

In these experiments the treatments that kept the cut-exposed cells in air before inoculation, did not cause any hastening of death in the cells infected by compatible races of *Phytophthora infestans*. It appears that even in the case of the cells infected by incompatible races the effect of the treatment is less in weakly-resistant cells than in highly-resistant ones. The "hypersensitivity" may be looked upon as the physiological process following the incompatibility established between host and parasite after contact with each other, leading to the hypersensitive death of the host cells. The above facts suggest that the status of the metabolic activity of the cytoplasm does not affect the establishment of incompatibility, but it does affect the process of hypersensitivity.

The reason why treatments which accelerate the metabolic activity hasten the hypersensitive death is not known. It seems unlikely that the pre-infectional accumulation of some toxic substances in cut-exposed cells before inoculation is responsible for the hastening of hypersensitive cell-death, because these treatments did not affect the time for cell-death in the cells infected by compatible races. In addition, the death of the intra-cellular hyphae in dead hypersensitive-cells, does not seem to be hastened by this treatment. Further work should be done to determine whether or not the production of a post-infectional toxic substance (MÜLLER 1958, GÄUMANN 1959), as was suggested by some works (MÜLLER 1958, SUZUKI 1958 and URITANI 1959), is linked with metabolic activity and thus is responsible for the hypersensitivity.

It seems reasonable, however, to suppose that the metabolically active status of the cytoplasm is a favourable condition both for the disorganization of the cytoplasm leading to its death and for production of abnormal metabolites (phytoalexin), occurring simultaneously.

The researches reported in this paper were read in annual meeting of Phytopath. Soc. of Japan Tokyo at Mar. 1958.

The author wishes to express his gratitude to Dr. I. TANAKA for his advice and encouragement during the investigation, and to Dr. LEO JONES for his discussion and advice in preparation of this manuscript.

Summary

The time required for hypersensitive death of potato plant cells infected by various races of *Phytophthora infestans* was measured by means of vital staining with neutral red and by observation of protoplasmic streaming under a microscope. The hypersensitive death of the cut exposed cells of the potato leaf petioles infected by the incompatible races took place remarkably earlier in the ones kept for several hours in air before inoculation than in those inoculated soon after a brief washing of the freshly-cut surface. Vital staining with neutral red also demonstrated that almost all of the intracellular hyphae are still alive at the time of the accelerated, hypersensitive death of the host cell. These results and formerly reported experiments in which pre-heat and 2.4-DNP treatment prolonged the hypersensitive death suggest that hypersensitive death is hastened by the treatment which accelerates the metabolic activity in the host cells. To the contrary, in cells infected by the compatible races, no change was observed by first exposing the cut surface to air for several hours before inoculation.

In addition, it was shown in the cells of five potato varieties inoculated with compatible and incompatible races of *Phytophthora infestans* that the weaker the resistance, the longer the time required for hypersensitive death to occur in these cells.

These results provide us with further evidence concerning the important role of hypersensitivity in disease resistance of plants and the relationship between hypersensitivity and metabolic status of the cytoplasm of each infected cell.

Zusammenfassung

Die Vitalfärbung von Kartoffelblattgewebe mit Neutralrot und die Beobachtung der Plasmaströmung ermöglichten es, festzustellen, wann eine Zelle unter der Einwirkung von *Phytophthora infestans* wegen Überempfindlichkeit abstarb. Der Überempfindlichkeitstod von Blattstielzellen an Schnittflächen erfolgte früher, wenn diese mehrere Stunden nach dem Schnitt in Luft aufbewahrt wurden, bevor sie mit inkompatiblen Pilzrassen infiziert wurden, als wenn sie nur unmittelbar vor der Infektion geschnitten und kurz mit Wasser ausgewaschen wurden. Die Vitalfärbung mit Neutralrot zeigte auch, daß fast alle intrazellulären Hyphen noch lebten, wenn die Wirtszellen schon abgestorben waren. Diese sowie früher publizierte Ergebnisse machen die Erklärung wahrscheinlich, daß der Überempfindlichkeitstod durch Beschleunigung der Umsetzungsvorgänge in den Wirtszellen gefördert wird. Im Ge-

gensatz dazu konnte bei verträglichen Pilzrassen keine Beschleunigung der Absterbeerscheinungen bei Wirtszellen festgestellt werden, welche während längerer Zeit nach dem Schnitt in Luft aufbewahrt waren.

Fünf Kartoffelsorten wurden mit kompatiblen und inkompatiblen Rassen von *Phytophthora infestens* infiziert. Je schwächer die Resistenz der Sorten war, desto länger lebten die Zellen an den Infektionsstellen.

Literature cited

1. Gäumann, E., 1950: Principles of plant infection. London.
2. — —, und H. Kern, 1959: Über chemische Abwehrreaktionen bei Orchideen. Phytopath. Z. **36**, 1—26.
3. Jerome, S. M. R., and K. O. Müller, 1958: Studies on Phytoalexins 2. Influence of Temperature on resistance of *Phaseolus vulgaris* towards *sclerotinia fructicola* with reference to Phytoalexin output. Aust. J. of Biol. Sci. **11**, 301—314.
4. Mckee, R. K., 1955: Host-parasite relationships in dry-rot disease of potatoes. Ann. Appl. Biol. **41**, 417—434.
5. Meyer, G., 1940: Zellphysiologische und anatomische Untersuchungen über die Reaktion der Kartoffel-Knolle auf den Angriff der *Phytophthora infestans* bei Sorten verschiedener Resistenz. Arb. Biol. Anst. Berl. **23**, 97—132.
6. Müller, K. O., und G. Meyer, 1941: Zellphysiologische und anatomische Untersuchungen über die Reaktioner der Knollen von resistenten und anfälligen Kartoffelsorten gegenüber *Phytophthora infestans*. Landw. Jb. **90**, 235—238.
7. — —, 1957: Wound healing of the potato tuber in relation to infection by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Aust. J. of Biol. Sci. **10**, 189—196.
8. Suzuki, N., K. Kasai, Y. Yamazaki, T. Araki, S. Toyoda and T. Takanáshi, 1957: Studies on the violet root rot of sweet potatoes. Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. Japan **8**, 1—131.
9. Takase, N., 1957: An additional report on the difference in phenotypic expression between genes, R_1 and R_4, controlling resistance to *Phytophthora infestans* in potatoes. Euphytica **6**, 189—192.
10. Takakuwa, M., and K. Tomiyama, 1957: Cytological studies on resistance of potato plants to *Phytophthora infestans* 6. The time required for the browning process of midrib cell induced by the infection with two different pathogenic strains of *Phytophthora infestans* in potatoes. Res. Bull. Hokkaido Nat. Agr. Exp. Sta. **73**, 94—99.
11. Tomiyama, K., 1954: Cytological studies on resistance of potato plants to *Phytophthora infestans*. 1. The processes of alteration in the host cell produced by invasion of parasite. Res. Bull. Hokkaido Nat. Agr. Exp. Sta. **67**, 28—38.
12. — —, 1955: Do. 2. The death of the intracellular hyphae in the hypersensitive cell. Ann. Phytopath. Soc. Japan **19**, 149—154.
13. — —, 1956 (a): Do. 3. The time required for the browning of midrib cell of potato plants infected by *Phytophthora infestans*. Ibid. **20**, 165—169.
14. — —, 1956 (b): Do. 4. On the movements of cytoplasm of the host cell induced by the invasion of *Phytophthora infestans*. Ibid. **21**, 54—62.
15. — —, 1957 (a): Do. 5. Effect of 2.4-Dinitrophenol upon the hypersensitive reaction of potato plant cell to infection. Ibid. **22**, 75—78.
16. — —, 1957 (b): Do. 7. Growth of intracellular hyphae of *Phytophthora infestans* in the living potato plant cells which are resistant or susceptible to the infection of them. Ann. Phytopath. Soc. Japan **28**, 129—133.

17. Tomiyama, K., 1957 (c): Do. 8. The influence of a pre-infectional heat treatment on the resistance of potato plant to *Phytophthora infestans.* Ann. Phytopath. Soc. Japan **22,** 237—242.

18. — —, M. Takakuwa and N. Takase, 1958: The metabolic activity in healthy tissue neighbouring the infected cells in relation to resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary in potatoes. Phytopath. Z. **31,** 237—250.

19. — —, — —, — —, and R. Sakai, 1959: Alteration of oxidative metabolism in a potato tuber cell invaded by *Phytophthora infestans* and in the neighbouring tissues. (Physiological studies on the defence reaction of potato plant to the infection of *Phytophthora infestans.* 7.) Phytopath. Z. **37,** 113—144.

20. Uritani, I., and T. Akazawa, 1959: Respiratory alteration in diseased tissue. Plant Pathology **1,** 349—390, Acad. Press, New York.

21. Yamamoto, M., 1957: Investigations by means of phase-contrast and polarization microscopes on the penetration of *Phytophthora infestans* into susceptible plants. Ann. Phytopath. Soc. Japan **22,** 148—152.

Aus dem Institut für Obstzüchtung Naumburg/Saale
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin
Direktor: Dr. habil. F. Gollmick

Studien zur biologischen Differenzierung des Falschen Mehltaues der Weinreben (*Peronospora viticola* de Bary).

Von

H. Grünzel[1])

Mit 6 Abbildungen

Inhalt: I. Einleitung. — II. Material und Methoden. a) Pilzherkünfte; b) Einsporangienisolierung und -vermehrung; c) Anzucht der Topfreben; d) Künstliche Infektion; e) Auswertung des Befalls. — III. Untersuchungen zur parasitologischen Differenzierung. a) Aggressivität; b) Fruktifikationszeit; c) Oosporenbildung. — IV. Untersuchungen zur morphologischen Differenzierung. a) Größe und Form der Sporangien; b) Größe und Form der Sporangienträger. — V. Untersuchungen zur physiologischen Differenzierung. a) Keimungsmodus der Sporangien; b) Schwärmdauer; c) Empfindlichkeit gegen Fungizide. — VI. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

I. EINLEITUNG

Peronospora viticola de Bary (= *Plasmopara viticola* [Berk. et Curt.] Berl. et de Toni) ist der Erreger des Falschen Mehltaus, der wirtschaftlich wichtigsten Krankheit des Weinstocks. Die Biologie des Pilzes ist weitgehend geklärt. Noch offen ist die Frage, ob bei *Peronospora viticola* erblich fixierte, sich morphologisch oder in ihrer physiologischen Aktivität unterscheidende Formen (Varietäten, Morphotypen bzw. Biotypen, formae speciales oder physiologische Rassen) auftreten. Sowohl für die Restistenzzüchtung wie auch für die Direktbekämpfung wäre eine Klärung dieses Problems von Bedeutung.

In einem „Essai d'un Synopsis des Péronosporées" begrenzte und umschrieb de Bary (1863) die einzelnen *Peronospora*-Spezies nach ihren Wirtsfamilien und -unterfamilien. In den folgenden Jahrzehnten wurde bei Neubeschreibungen von Peronosporaceen-Arten oder systematischen Bearbeitungen diese de Barysche Auffassung zugrunde gelegt (Fuckel 1869/1870, Farlow 1883, Schroeter 1886, Berlese, de Toni und Fischer 1888, Fischer 1892,

[1]) Ein Teil der Ergebnisse ist in einer Dissertation, Jena 1957, des Institutes für allgemeine Botanik der Friedrich-Schiller-Universität, Direktor: Prof. Dr. H. Wartenberg, enthalten.

MAGNUS 1893, BERLESE 1902, JACZEWSKY 1901, WILSON 1907, MIGULA 1910, MASSEE und MASSEE 1913 u. a.).

GÄUMANN (1918 a, b, 1919 a, b, 1923) gliederte die von DE BARY auf einzelne Wirtsfamilien oder -unterfamilien bezogenen *Peronospora*-Spezies auf Grund morphologischer Unterschiede in Größe und Form der Konidien und Konidienträger nach ihren Wirtsgattungen und Wirtsarten in selbständige Spezies auf (z. B. *Peronospora trifoliorum* de By. in *P. coronillae* Gäum., *P. oxytropidis* Gäum., *P. phacae* Gäum., *P. tetragonolobi* Gäum., *P. trifolii hybridi* Gäum., *P. trifolii alpini* Gäum., *P. trifolii arvensis Gäum., P. trifolii minoris* Gäum., *P. trifolii repentis* Gäum. u. a.).

Ebenfalls stellte SCHWEIZER (1917, 1919) bei *Bremia lactucae* Regel sogenannte „kleine Arten" fest. Auch WARTENWEILER (1917, 1918 a, b) beschreibt morphologisch unterschiedliche Formen von *Plasmopara pygmaea* (Ung.) Schroet., *P. densa* (Rabh.) Schroet. und *P. nivea* (Ung.) Schroet. auf verschiedenen Wirten, betont aber, diese *Plasmopara*-Spezies deshalb nicht weiter aufzuteilen, sondern sie als systematische Einheiten zu belassen. Nach HOLM (1946) setzt sich *Plasmopara umbelliferarum* (Casp.) Schroet. aus einer Anzahl von „microspecies" auf verschiedenen Wirtsarten zusammen. Ähnlich wie GÄUMANN verfuhren SĂVULESCU und RAYSS (1930, 1932, 1934, 1935), SĂVULESCU (1938, 1941 a), SĂVULESCU und SĂVULESCU (1951) und SĂVULESCU und VANKY (1955/56), die die in Rumänien (bzw. in Mecklenburg) auftretenden *Peronosporaceae*-Arten in eine Vielzahl neuer Arten und Formen aufgliederten.

Bei *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et de Toni beschreibt SĂVULESCU (1941 b) drei unterschiedliche Formen:

1. Forma *Viniferae-Ampelopsidis* Săvul. (Länge-Breite-Index der Sporangien 1,24 bis 1,25; Sporangienträger mit langen Zweigen);
2. Forma *silvestris* Săvul. (Länge-Breite-Index der Sporangien 1,25; Sporangienträger mit kürzeren Zweigen);
3. Forma *aestivalis-labruscae* Săvul. (Länge-Breite-Index der Sporangien 1,33 bis 1,37; Sporangienträger mit langen Zweigen).

Nach PROCENKO (1946) tritt im Amurgebiet auf *Vitis amurensis* eine selbständige Spezies *Plasmopara amurensis* A. Proc. auf. (Sporangienträger bei *P. amurensis* 200 bis 300 × 6 bis 7 μ, bei *P. viticola* 250 bis 850 × 8 bis 12 μ; Sporangien bei *P. amurensis* 20 bis 60 × 10 bis 26 μ, Länge-Breite-Index 2,0, bei *P. viticola* 12 bis 30 × 8 bis 17 μ, Länge-Breite-Index 1,45; Sporangien bei *P. amurensis* sind hellrauchfarben und weisen Warzen an der Basis und eine verdickte Membran am oberen Teil auf.)

GOLOVINA (1955) schließlich gliederte den Falschen Rebenmehltau auf Grund der Größenunterschiede von Sporangien und Sporangienträgern — insbesondere in verschiedenen Teilen der Sowjetunion — in drei Varietäten:

1. *Plasmopara viticola* Berl. et de Toni var. *americana* N. Golov.: Sporangiophoren 300 bis 500 μ lang, Sporangien kugelig und ellipsoid, 8 bis 25 × 8 bis 20 μ, verbreitet in Amerika, Europa und Asien;
2. *P. viticola* Berl. et de Toni var. *amurensis* N. Golov.: Sporangiophoren 250 bis 300 μ lang, Sporangien kugelig und ellipsoid, 11 bis 20 × 11 bis 15 μ, verbreitet im Fernen Osten;
3. *P. viticola* Berl. et de Toni var. *parthica* N. Golov.: Sporangiophoren 120 bis 300 μ lang, Sporangien ellipsoid, 20 bis 40 × 16 bis 27 μ, verbreitet in Mittelasien.

Den von SĂVULESCU, PROCENKO und GOLOVINA beim Falschen Rebenmehltau durchgeführten Differenzierungen liegen nur morphologische Unterschiede bei Sporangien und Sporangiophoren auf verschiedenen Wirtspflanzen oder in verschiedenen Verbreitungsgebieten zugrunde; über Infektionsversuche mit den beschriebenen Morphotypen teilen SĂVULESCU (1941 b), SĂVULESCU und SĂVULESCU (1951), PROCENKO (1946) und GOLOVINA (1955) nichts mit.

Neben den angeführten morphologischen Untersuchungen sollen im folgenden die physiologisch ausgerichteten Arbeiten betrachtet werden.

Eingehende Untersuchungen über die physiologische und parasitologische Differenzierung innerhalb einzelner Peronosporaceen-Arten begannen mit dem gesicherten Nachweis von Biotypen bei *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary durch Schick (1932) und Müller (1932).

Togashi und Shibasaki (1934), die *Albugo candida* (Pers.) Kuntze auf Grund von Unterschieden in der Sporengröße in die Varietäten *macrospora* und *microspora* aufgegliedert hatten, stellten innerhalb dieser Varietäten weiterhin zwei bzw. drei physiologisch unterschiedliche Formen fest.

Eine biologische Differenzierung wurde ebenfalls bei *Phytophthora fragariae* Hickm. (Hickman und English 1951, Scott, Jeffers, Darrow und Ink 1951, Montgomerie 1956), bei *Phytophthora parasitica* Dast. var. *nicotianae* Tucker (Apple 1957, Ivantcheva-Gabrovska 1958), bei *Phytophthora phaseoli* Thaxt. (Wester und Jorgensen 1959), bei *Phytophthora palmivora* Butl. (Orellana 1959), bei *Sclerospora graminicola* (Sacc.) Schroet. (Uppal und Desai 1932), bei *Bremia lactucae* Regel (Jagger und Chandler 1933, Schultz und Röder 1938, Jagger und Whitaker 1940, Ling und Tai 1945), bei *Pseudoperonospora humuli* Miy. et Tak.) Wils. (Hoerner 1940), bei *Peronospora spinaciae* Laub. bzw. *Peronospora effusa* (Grev.) Rab. (Richards 1939, Zink und Smith 1958), bei *Peronospora brassicae* Gm. bzw. *Peronospora parasitica* var. *brassicae* (Gäumann 1926, Chu 1935, Wang 1944) und bei *Peronospora manshurica* (Naum.) Syd. (Geeseman 1950, Lehman 1958) nachgewiesen. Bei *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. kann nach Behr (1956) mit dem Vorkommen von Lokalrassen in Mitteldeutschland gerechnet werden.

Die Existenz physiologischer Rassen bei *Peronospora viticola* ist von seiten der Weinbaupraxis wiederholt erwogen worden. So berichtet schon Zschokke (1906), „daß der Pilz seinen Charakter ändert". Zweigelt (1934) macht wahrscheinlich, „daß die *Peronospora* im Laufe der Jahrzehnte ihren biologischen Habitus umgewandelt hat" und daß biologische Rassen von unterschiedlicher Virulenz vorliegen können. Auch nach Juncu (1939) können die *Peronospora*-Sporen „infolge der fortgesetzten Behandlung" „neue Formen von Widerstandsfähigkeit erworben" haben. Die Infektionen in trockenen Zeitabschnitten sollen nach Ciferri (1943) von eventuellen Rassen des Pilzes hervorgerufen werden. Hengl (1942) schreibt: „Wodurch ist dieses unterschiedliche Verhalten des Pilzes zu erklären? Man muß ja nicht gerade denjenigen recht geben, die von verschiedenen Stämmen der *Peronospora* sprechen, aber sicherlich ist hier noch eine Lücke in unserer Erkenntnis, die zu schließen sehr wesentlich wäre . . .".

Im Rahmen der Immunitätszüchtung gegen die *Peronospora viticola* am ehemaligen Kaiser-Wilhelm-Institut für Züchtungsforschung in Müncheberg/Mark nahm Scherz (1938) nach Vorarbeiten von Husfeld (1933) die Biotypenfrage in Angriff. In ihrem Resistenzgrad genau bekannte Klone aus der F_2-Population einer frei abgeblühten „Oberlin 595" wurden unter optimalen Bedingungen mit 10 *Peronospora*-Herkünften aus deutschen Weinbaugebieten künstlich infiziert. Diese Klone erwiesen sich gegenüber allen Herkünften, später auch in Rumänien, Italien und der Türkei in sogenannten „Peronosporalagen" als völlig resistent (Scherz 1938, Husfeld 1943). Da weitere entsprechende Ergebnisse nicht bekanntgeworden sind, schien es angebracht, diese Untersuchungen in Naumburg wieder aufzunehmen.

In Italien konnte Baldacci (1944), der mit drei von verschiedenen Rebensorten isolierten *Peronospora*-Stämmen reziproke Infektionen durch-

führte, keine spezialisierten Rassen von *P. viticola* nachweisen. Zu dem gleichen Ergebnis gelangte PEYRONEL (1949). Dagegen scheinen neuere Arbeiten aus Nordamerika eine Spezialisierung der *Peronospora viticola* auf verschiedene Wirtsarten zu bestätigen. So berichtet SANTILLI (1956, 1957, 1958) von einer in Kalifornien auftretenden physiologischen Form der *P. viticola* („California Strain"), die nur die Arten *Vitis californica* Benth., *V. girdiana* Muns., *V. arizonica* Engel. und *V. treleasei* Muns. befällt.

Nach MAJERNIK und FOLTYN (1957) ist die *Peronospora viticola* äußerst anpassungsfähig an bestimmte Feuchtigkeitsverhältnisse, so daß „Varietäten" mit Unterschieden in der Größe und Verzweigung der Sporangienträger ausgebildet werden. Die Sporangienproduktion steht hierzu in einem direkten Verhältnis, was die Infektionsgefahr erheblich steigern kann. MAJERNIK (1955) gibt an, durch künstliche Infektion im Glashause einen neuen „Biotyp" mit kleineren Sporangien, die nur je eine Zoospore bilden, erhalten zu haben.

Die im folgenden dargestellten Untersuchungen wurden in den Jahren 1952 bis 1959 durchgeführt; sie beschränkten sich auf Pilz-Herkünfte aus den mitteleuropäischen Weinbaugebieten. Die *Peronospora*-Stämme wurden auf parasitologische Unterschiede (Aggressivität, Fruktifikationszeit, Oosporenbildung), auf morphologische Unterschiede (Größe und Form der Sporangien und Sporangienträger) und auf physiologische Unterschiede (Keimungsmodus der Sporangien, Schwärmdauer, Empfindlichkeit gegen Fungizide) untersucht.

II. MATERIAL UND METHODEN

a) Pilzherkünfte

Bei der Auswahl der *Peronospora*-Herkünfte wurde angestrebt, die Untersuchungen möglichst mit Stämmen aus allen wichtigen mitteleuropäischen Weinbaugebieten durchzuführen[1]). In Abbildung 1 sind die Herkunftsorte wiedergegeben. Es bedeuten:

BK = Bernkastel-Kues/Mosel (Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Weinbau);

Fr = Freiburg/Breisgau (Staatliches Weinbauinstitut);

Gwh = Geilweilerhof/Pfalz (Forschungsinstitut für Rebenzüchtung);

Ge = Geisenheim/Rhein (Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau);

[1]) Die verschiedenen *Peronospora*-Herkünfte wurden freundlicherweise von den Weinbauversuchsanstalten zugesandt oder in den Weinbergen selbst gesammelt. An dieser Stelle möchte ich den Herren Dr. NIEMEYER und WIEMER in Bernkastel-Kues, Dr. WILHELM in Freiburg, Dr. GEISLER in Geilweilerhof, Prof. Dr. STELLWAAG und Dr. HEIMANN in Geisenheim, Prof. Dr. PRINZ in Kischinev, Dr. KOHNLECHNER in Klosterneuburg, HILLEBRAND in Bad Kreuznach, THATE in Neustadt, Landwirtschaftsrat HASSELBACH und Dr. MÜHLMANN in Oppenheim, Dr. KAUFHOLD in Veitshöchheim und Chemierat VILLFORTH und Dr. SCHULLE in Weinsberg für ihre Mühewaltung nochmals herzlich danken.

Go = Goseck/Saale (Lage Dechantenberg des VE Weingutes Naumburg/Saale);
Ka = Kaiserstuhl (Gemarkung Bickensohl);
Klo = Klosterneuburg/Niederösterreich (Höhere Bundes-Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau);
Kr = Bad Kreuznach/Nahe (Landes-Lehr- und Versuchsanstalt für Weinbau, Obstbau und Landwirtschaft);
Na = Naumburg/Saale (Biologische Zentralanstalt, Institutsgarten);
NH = Neustadt/Hardt (Landesanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau);
Oc = Ockenheim/Rheinhessen;
Op = Oppenheim/Rhein (Landes-Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau);
Ros = Roßbach/Saale (Versuchsweinberg „Der Steinmeister");
Sh = Saalhäuser bei Bad Kösen/Saale;
Ve = Veitshöchheim bei Würzburg (Bayerische Landesanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau, Lage „Veitshöchheimer Wölflein");
Wsb = Weinsberg/Württemberg (Staatliche Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau).

Seit Ende 1958 stand auch eine *Peronospora*-Herkunft aus Kischinev/Moldauische SSR zur Verfügung (aufgeführt als „Mo").

Abb. 1. Herkunftsorte der *Peronospora*-Stämme

Die einzelnen Herkünfte wurden auf Topfreben *(Vitis vinifera)* übertragen und auf diesen im Gewächshause in Infektionskabinen gehalten, die durch Glaszwischenwände voneinander getrennt waren. Die geschlossenen Kabinen konnten nach Bedarf bewässert werden. Alle 10 bis 14 Tage erfolgte das Überimpfen der Herkünfte auf frische Topfreben, da sonst mit dem Absterben der infizierten Rebblätter auch der Pilz zugrunde gegangen wäre.

Die Möglichkeit einer Vermischung der Stämme wurde dadurch eingeschränkt, daß an ein und demselben Tage höchstens zwei *Peronospora*-Herkünfte übertragen wurden. Um evtl. doch eingetretene Vermischungen auszuschalten, wurden die einzelnen *Peronospora*-Herkünfte in jedem Sommer durch neue Isolierungen aus den Herkunftsgebieten ersetzt.

Die *Peronospora*-Herkünfte vom gleichen Ort, aber aus verschiedenen Jahren, sind durch die Jahreszahl gekennzeichnet; so bedeutet z. B. „NH 53": *Peronospora*-Herkunft aus Neustadt/Hardt im Jahre 1953.

b) Einsporangienisolierung und -vermehrung

Bei Verwendung von genetisch heterogenen Herkunfts-Populationen besteht die Möglichkeit, unter ungünstigen Bedingungen physiologisch oder parasitologisch aktivere Linien auszulesen. Doch wurden — im Gegensatz zu HUSFELD (1933) und SCHERZ (1938), die für ihre Infektionsversuche nur Herkunftsgemische des Pilzes verwendeten — die vorliegenden Untersuchungen sowohl mit Herkünften („Populationen") als auch mit idiotypisch einheitlichen Einsporvermehrungen („Linien") durchgeführt.

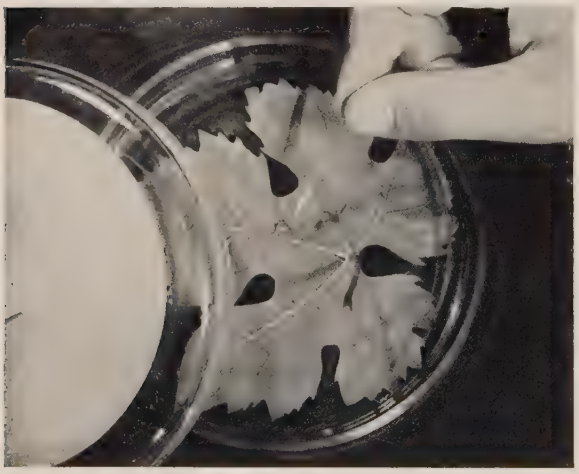


Abb. 2. Das Anlegen einer Einsporangienkultur von *Peronospora viticola*

Um Einsporangienkulturen zu erhalten, wurde unter mikroskopischer Kontrolle ein Sporangium mit einer feinen Glaskapillare in einen Regenwassertropfen, der sich auf der Unterseite eines Rebenblattes in einer Petrischale befand, übertragen (Abb. 2). Sobald sich an der Infektionsstelle ein Sporenrasen zeigte — was bei rund 2 % der durchgeführten Einsporangieninfektionen der Fall war —, erfolgte die Vermehrung der Einsporkultur auf Topfreben. Die Einsporangienisolierung aus einer Herkunft wurde durch ein E gekennzeichnet, z. B. „NH 53-E". Sind von einer Herkunft mehrere Einsporlinien angelegt worden, so wurden diese fortlaufend numeriert, z. B. „NH 53-E 1", „NH 53-E 2"...

Von Einzoosporen-Isolierungen wurde aus folgendem Grunde Abstand genommen: Da nach den zytologischen Untersuchungen von Arens (1929 a) und Bosc (1946) die Reduktionsteilung bei *Peronospora viticola* während der Keimung der Oospore stattfindet und die Zoosporen haploid sind, liegt der Aufteilung der Sporangienzelle in mehrere Zoosporen ein mitotischer Prozeß zugrunde. Die Kerne eines älteren Sporangiums sind demnach Geschwisterkerne, so daß Einzoospor- und Einsporangienkulturen gleichwertig sind und genetisch reine Linien darstellen (vgl. die Befunde von Krüger [1940] und Graham [1954] bei *Phytophthora infestans).* Eine Verschmelzung der Zoosporen, wie sie Critopoulos (1951) für *Phytophthora capsici* und Hiddema und Kole (1954) für *P. infestans* feststellten, ebenso zweikernige Zoosporen, wie sie Castronovo (1955) bei *P. infestans* beschreibt, sind bei der *Peronospora viticola* bisher nicht beobachtet worden.

c) Anzucht der Topfreben

Die *Peronospora viticola* ist ein obligater Parasit. Die Kultur auf künstlichen Nährböden ist mehrfach, jedoch bisher ohne praktischen Erfolg versucht worden (Literatur und Versuche bei Grünzel 1957). Auch die Angaben von Pioth (1957) über die Kultur des Pilzes in vitro sind nicht eindeutig.

Zur Erhaltung der verschiedenen *Peronospora*-Herkünfte und -Einsporvermehrungen wie zur Durchführung der Versuche mußten deshalb laufend peronosporafreie und infizierbare Reben bzw. Rebenblätter herangezogen werden.

Zum Aufbau des Testsortimentes wurde das Rebholz den Naumburger Sortimenten entnommen; hierbei wurde besonders auf Klonenreinheit geachtet.

Die Vermehrung erfolgte im Frühjahr als Zweiaugenstecklinge in Mistbeetkästen oder in Sandbeeten im Gewächshause. Die bewurzelten Reben wurden im Herbst aus den Anzuchtbeeten genommen, stark zurückgeschnitten und nach Überwinterung im Einschlag im nächsten Frühjahr eingetopft. Um *Peronospora*-Fremdinfektionen auszuschließen, wurden die Sprosse vor Versuchsbeginn auf 2 bis 3 Augen zurückgeschnitten und alle Blätter entfernt. In besonders dazu eingerichteten, geschlossenen Glaskästen im Gewächshause, die mit einer Schicht feuchtem Torfmull ausgelegt und mit Zusatzbeleuchtung ausgestattet waren, trieben die Reben bei reichlicher Bewässerung in relativ kurzer Zeit wieder aus. Die so gewonnenen, vollkommen peronosporafreien Triebe dienten zur Durchführung der Infektionsversuche.

War mit vorgeschrittener Jahreszeit die *Peronospora* auch im Freiland aufgetreten, dann wurden die zurückgeschnittenen Topfreben mehrere Minuten lang in 2 %ige $CuSO_4$-Lösung getaucht, anschließend in fließendem Wasser abgewaschen und erst dann in die Anzuchtkästen überführt.

Um die Infektionsversuche nach dem herbstlichen Laubfall fortsetzen zu können, wurden in jedem Frühjahr vor dem Austrieb 150 bis 200 gut durchwurzelte *Vitis vinifera*-Topfreben in einem Kühlraum bei — 0,5 °C bis + 2,5 °C aufbewahrt. Dadurch war es möglich, den Austrieb der Reben bis November oder Dezember zu verzögern.

d) Künstliche Infektion

Künstliche Infektionen an Weinreben mit *Peronospora viticola* führte schon MÜLLER-THURGAU (1911) durch. Methoden zur Reiheninfektion und -befallsauswertung wurden von KOTTE (1924), GÖRNITZ (1933), ZILLIG und NIEMEYER (1937), STAUDERMANN (1937 a, b), MOREL (1947), BREBION (1955) und TESCHNER (1955), deren Untersuchungen besonders auf die Belange der Pflanzenschutzmittelprüfung abgestellt waren, und von HUSFELD (1933) und SCHERZ (1943) erarbeitet.

Bekanntlich sind die Sporangien und Zoosporen der *Peronospora viticola* gegen geringste Spuren von Kupfer sehr empfindlich. Eine Berührung von Metallgeräten mußte daher vor und während der Infektion vermieden werden. Vorversuche hatten ergeben, daß im Naumburger Leitungswasser wie auch im destillierten Wasser die Sporangien nur in geringem Maße keimten. Dagegen konnte bei Sporangien, die in Regen- oder Schneewasser eingebracht waren, nach kurzer Zeit ein reges Ausschwärmen der Zoosporen beobachtet werden.

Abb. 3. Infizierte Topfrebe unter Glaszylinder (schematisch)

Von den peronosporabefallenen Rebblättern wurden die Sporangien abgespült und als Sporensuspension auf die Blattunterseite der zu infizierenden Rebblätter mittels Glaszerstäubers gleichmäßig aufgesprüht. Es wurde darauf geachtet, daß die infizierten Blätter sich in einer für die Entwicklung des Pilzes günstigen hohen Luftfeuchtigkeit befanden, da sonst beim Verdunsten der Infektionssprühtropfen auch die Zoosporen zugrunde gegangen wären. Nach der Infektion wurden die Topfreben in feuchtem Torfmull unter Glaszylindern in dazu hergerichteten Infektionskammern im Gewächshause aufgestellt. Der feuchte Torfmull hatte die Aufgabe, einmal den Reben von unten ständig die benötigte Feuchtigkeit zuzuführen, andererseits die infizierte Rebe von der Außenluft vollständig abzuschließen, um *Peronospora*-Fremdinfektionen zu vermeiden (Abb. 3).

e) Auswertung des Befalles

Die Auswertung des *Peronospora*-Befalles der künstlich infizierten Reben mußte je nach der Fragestellung verschieden durchgeführt werden.

Bei der Biotypenanalyse sollte die Befallsstärke und Reaktionsweise der Reben ausgewertet werden. Für diesen Zweck erwies sich das von SEELIGER (1924, 1925) aufgestellte Bonitierungsschema für den *Peronospora*-Befall als unbrauchbar. SEELIGER umschreibt den Intensitätsgrad eines jeden Krankheitssymptomes (Ölfleckenbildung, Konidienrasenbildung, Blattbefall u. a.) mit den Zahlen 1 bis 8: 1 = null, 2 = fast null, 3 = sehr schwach,

4 = schwach, 5 = schwach bis mittel, 6 = mittel, 7 = mittel bis stark, 8 = stark. Der Gesamtanfälligkeitsgrad ergibt sich dann durch Addition der einzelnen Anfälligkeitsgrade. Diese bis ins einzelne gehende Bonitierung ist viel zu fein und erschwert den Überblick. Das gleiche gilt für die 9stufige Skala von Polsinelli (1957).

Schweizer (1919) und Gäumann (1926) verwendeten zur Bonitierung des Befalles von Salat bzw. Kohl mit *Bremia lactucae* bzw. *Peronospora brassicae* eine fünfstufige Befallsskala (1 = unanfällig, 5 = hochanfällig), Merschanian (1936) und Zillig und Niemeyer (1937) bewerten den *Peronospora*-Befall von Reben nach einem 6-Klassensystem: Nach Merschanian ist 0 = anfällig und 5 = resistent, während nach Zillig und Niemeyer 0 = kein Befall, 1 = $^1/_{16}$ der Blattfläche befallen, 2 = $^1/_8$, 3 = $^1/_4$, 4 = $^1/_2$ und 5 = über $^1/_2$ der Blattfläche befallen bedeutet. Die Bewertungen von Merschanian und Zillig und Niemeyer berücksichtigen aber nicht die Reaktion der Rebe auf den Befall, sondern nur die Größe der vom Pilzrasen bedeckten Blattfläche.

Abb. 4. Befallsstellen (Sporangienträgerrasen) von *Peronospora viticola* auf Blättern von *Vitis vinifera*

Als brauchbar erwies sich dagegen das von Roemer, Fuchs und Isenbeck (1938) für verschiedene Pilzkrankheiten aufgestellte Beurteilungsschema (Klassen 0 bis 4), in dem besonders die Abwehrreaktion des Wirtes berücksichtigt wird. Scherz (1943) verwendete ein ähnliches Schema für die Selektion peronosporaresistenter Rebenformen innerhalb der Spezies *Vitis vinifera* (Klassen 1 bis 5). Das Schema von Roemer, Fuchs und Isenbeck wurde teilweise abgeändert.[1]) Es umfaßt hier 6 Befallsklassen (0 bis 5), die folgende Bedeutung haben:

0 = keine Reaktion des Wirtes auf die Infektion;
1 = punktförmige Nekroseflecke, keine Sporangienbildung (Punktinfektion);

[1]) Ein ähnliches Bonitierschema veröffentlichte Pioth (1957).

2 = kleine Nekroseflecke mit sehr wenigen Sporangienträgern;
3 = Nekroseflecke mit mäßiger Sporangienbildung (ungefähr 10 bis 30 Sporangienträger auf jeder Infektionsstelle);
4 = Pilzrasen an der Infektionsstelle bis 1 cm im Durchmesser;
5 = Pilzrasen über größere Teile des Blattes sich erstreckend.

Bei den Untersuchungen über die Fruktifikationszeit wurden — beginnend mit dem dritten Tage nach der künstlichen Infektion — die infizierten Blätter täglich beobachtet. Die Fruktifikationszeit wird als Differenz (in Tagen) zwischen der Infektion und dem Tage, an welchem die ersten Sporangienträger festgestellt wurden, angegeben.

Bei den Untersuchungen über die Fungizidempfindlichkeit interessierte nicht das Befallsbild auf der Weinrebe, sondern die Anzahl der trotz Fungizidbehandlung auf den Blättern angegangenen Infektionen. Für derartige Versuche waren etwas derbere Blätter besonders geeignet, da hier die Befallsstellen kleiner und daher leichter auszählbar blieben und die Gefahr der Fäulnis geringer als bei zarteren Blättern war. Wenige Tage nach Abschluß der Fruktifikationszeit, wenn die Befallsstellen (Sporenrasen) deutlich sichtbar wurden, erfolgte die Auszählung (Abb. 4).

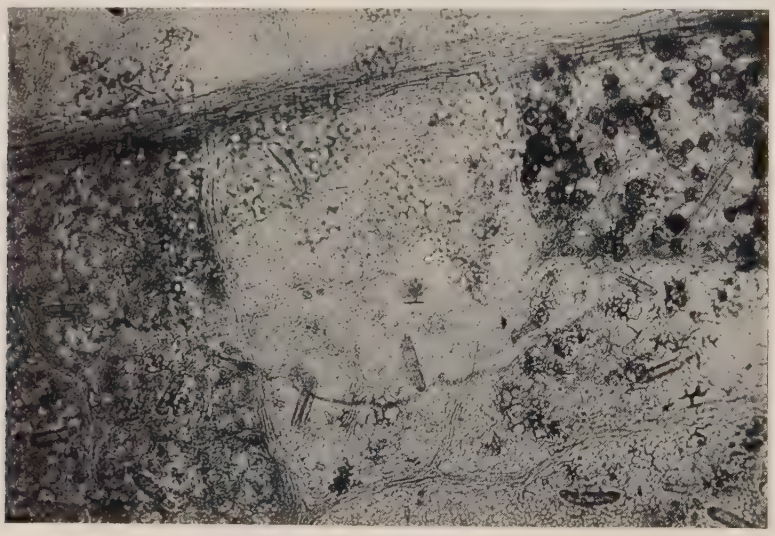


Abb. 5. Nekrotisierte Infektionsflecke von *Peronospora viticola;* links ohne Oosporen, rechts mit Oosporen (im Durchlicht 100fach)

Zeigte die Blattunterseite sehr viele Infektionsflecke, so wurden diese nur auf einem Teil der Fläche ausgezählt und dann über die Blattspreite integriert. Zur Darstellung des Infektionsergebnisses (vgl. Tab. 9) wurden die Befallsstellen auf den einzelnen Blättern einer Rebe zusammengezählt und die Summe der Befallsstellen durch die Anzahl der Blätter dividiert (Anzahl Befallsstellen/Blatt).

Abschließend sei noch auf die Auswertung der Oosporenbildung hingewiesen. Da die Durchmusterung von infizierten Blättern auf Oosporen längere Zeit beansprucht, wurde das zu untersuchende Material vorerst herbarisiert oder in 70 %igen Alkohol eingelegt, um in den arbeitsärmeren Wintermonaten aufgearbeitet zu werden. Bei einiger Erfahrung waren die Oosporen in den Befallsflecken, wenn diese stark durchleuchtet wurden, bei 100 bis 200facher Vergrößerung leicht festzustellen. Störende grüne oder braune Inhaltsstoffe des Rebenblattes konnten durch Hochführen der Blattteile über absoluten Alkohol in Xylol weitgehend entfernt werden. Oosporen enthaltende und oosporenfreie Infektionsflecke wurden getrennt ausgezählt (Abb. 5).

III. UNTERSUCHUNGEN ZUR PARASITOLOGISCHEN DIFFERENZIERUNG

a) Aggressivität

Es sollte das Verhalten von verschiedenen Herkünften der *Peronospora viticola* auf einem Testsortiment untersucht werden. Dazu wurden 60 *Vitaceae*-Arten und -Artbastarde so ausgewählt, daß — soweit wie möglich — die vermutliche Breite des Wirtsspektrums der *Peronospora viticola* erfaßt wurde. Bis auf wenige Ausnahmen sind nur solche Formen in dieses Sortiment einbezogen worden, bei denen die Anzucht von mindestens 10 gut durchwurzelten Topfreben gelungen war. Leider konnten einige Formen, wie *Vitis berlandieri, V. aestivalis* (Linsecomii) u. a. wegen ihrer sehr schlechten Bewurzelungsfähigkeit nicht untersucht werden. Somit standen für die Biotypendifferenzierung zur Verfügung:

a) Die Vitaceen *Ampelopsis heterophylla* Sieb. et Zucc., *A. brevipedunculata* Koeh., *Parthenocissus quinquefolia* Planchon;

b) Die *Vitis*-Arten des ostasiatischen Verbreitungsgebietes *Vitis coignetiae, V. pagnuccii, V. romaneti* und *V. amurensis*[1]), des nordostamerikanischen Verbreitungsgebietes *V. labrusca* und des nordwestamerikanischen Verbreitungsgebietes *V. monticola, V. arizonica, V. californica, V. cordifolia, V. cinerea, V. solonis, V. riparia* und *V. rupestris* (von den Arten *V. riparia* [= *vulpina*] und *V. rupestris* wurden in die Prüfung mehrere als Unterlagsreben gebräuchliche Klone einbezogen);

c) die europäische Wildrebe *Vitis silvestris* und die Edelsorten *(V. vinifera)* weißer Gutedel, Petersilien-Gutedel, Riesling, Silvaner, blauer Portugieser, Burgunder, Traminer, Seidentraube, Veltliner, Trollinger, fr. Malingre;

d) einige Artbastarde, die zum Teil im praktischen Weinbau als Unterlagen oder Direktträger Verwendung finden.

Die Untersuchungen wurden 1955/56 mit 6 Einspor-Linien begonnen und 1958 an dem gleichen Sortiment mit 5 Herkunfts-Populationen wie-

[1]) Die Übereinstimmung der im Naumburger Sortiment unter *Vitis amurensis* geführten Sorte mit den von Procenko beschriebenen Reben konnte bisher nicht erwiesen werden.

Tabelle 1 Das Verhalten verschiedener Herkünfte der des Test-

Lfd. Nr.	H. N.	Sortenbezeichnung	Blut	Na 55-E	Fr 55-E	Ge 55-E
1	2	3	4	5	6	7
1	1518	*Ampelopsis heterophylla*	N	0, 0	0, 0, 0	0, 0
2	1507	„ *brevipedunculata*	N	0, 0	0	0, 0
3	1515	*Parthenocissus quinquef.*	N	0, 0, 0	0, 0	0, 0
4	8	*Vitis coignetiae*	G		3 (2)	
5	7	„ *pagnuccii*	P	4, 3, 4	3, 3, 4	4, 4, 5
6	9	„ *romaneti*	O	3, 2		
7	1422	„ *amurensis*	X	1	1, 1, 1	2, 1, 2
8	14	„ *labrusca*	L	3, 4 (5)	4, 4	4, 3 (4)
9	26	„ *monticola*	M	1		1
10	154	„ *arizonica*	Z	4, 3 (4)	4, 4	3, 4, 3
11	27	„ *californica*	F	4, 3	4, 4	4, 3
12	31	*Cordifolia sempervirens*	D	3, 3	3, 3	4 (3), 3
13	176	*Cinerea* Arnold	C	1		1
14	530	*Solonis robusta*	S	3, 3	3, 3	2 (3)
15	71	*Riparia* G 1	V	0, 0	0, 1, 1	1, 0
16	72	„ G 1 A	V	1, 0 (1)	1	1, 0
17	108	„ G 2	V	1 (2), 1	0, 1	0, 1
18	89	„ G 181	V	1	1, 1	1
19	32	„ Geneva 1	V	1, 1	1, 0	0 (1)
20	44	„ Gloire de Montp.	V	1 (2)	1, 1	1, 1
21	45	„ grand glabre	V	1 (2)	2, 1	0, 1, 0, 1
22	117	„ *pubescens* Kloster.	V	0, 1, 1	0 (2), 0, 1	0, 1
23	144	*Rupestris* Dern	R	4, 4	3, 4	3, 4, 4
24	146	„ du Lot	R	3, 3	3	3, 2, 3, 1
25	143	„ Ganzin	R	0, 1	0, 0, 0	1, 1
26	1314	Wildrebe Tiefenbach	W	5, 5	4, 4	4, 4
27	1222	w. Gutedel	E	5, 5	5, 4	5, 5, 5
28	1225	Petersilien-Gutedel	E	4, 5	5, 4	4, 4, 5
29		Riesling	E	4, 4	4, 5	4
30		Silvaner	E	5, 4	5	5, 4
31	1264	blauer Portugieser	E	4, 5, 5	4, 5	5, 4
32	1318	gr. Burgunder	E	5	5	4, 5
33	1292	r. Traminer	E	5	4	5
34	1275	gelbe Seidentraube	E	4	4	4 (3)
35	1298	gr. Velteliner	E	4		4, 5
36	1295	blauer Trollinger	E	4	4	
37	1243	fr. Malingre	E	5, 4	5	4
38	993	Kober 1 BB	VB	0, 2, 1 (2)	0, 1, 2	0 (1), 0
39	490	„ 5 BB	VB	2, 2	3, 2, 3	2, 2, 1
40	999	„ 242 BBB	VB	1, 1, 2	1, 2	1, 2
41	477	Teleki 4 A	VB	2, 2	1, 2 (3)	3, 2, 3, 2
42	479	„ 5 A	VB	2, 3	3, 2 (3)	2, 3
43	470	„ C	VB	1 (2)	1, 2	
44	599	Schwarzmann-Rebe	VR	0, 1, 1	1, 0, 1	0, 1
45	590	M. G. 101—14	VR	1 (2), 1 (3)	2, 1 (2), 1	1 (2)
46	606	Of. 5 N	VR	4, 2	0, 1, 1	2 (3), 3
47	567	C. 3309	VR	0 (1)	1, 1	1, 1
48	536	1616 Na A	VS	2 (3), 1 (2)	1, 2	1 (2)
49	548	Ca. 216—3	RS	3, 3 (2)	2, 0	2, 2, (3)
50	559	Na. 170—2	V_2RS	0 (2)	0, 1, 0	0, 0 (2)
51	562	G. 159	S_2AL	3, 2	2, 1 (2)	2, 1
52	725	C. 13	EA	3	1 (3), 3	3 (4)
53	350	Na. 59—14	ER	3, 4 (3)	3, 3, 4	3, 3
54	353	M. G. 33 A	FR	3, 4	3, 3	0, 3, 4
55	368	Richter 12—21	FR	4, 3	3, 4	3, 2, 3, 4
56	338	Ganzin 1	FR	2, 3, 4, 4	3 (2), 3 (4)	3, 3, 3
57	227	G. 26	FV	3 (4)	3 (2)	3, 2
58	179	M. G. 143 A	FV	3, 4	2, 3, 3	3, 3
59	190	Oberlin 595	EV	0, 1	1, 0, 1 (2)	3, 0 (1)
60	194	„ 605	EV	2 (3)	3	2, 3

Peronospora viticola auf Topfreben — *Tabelle 1*
sortimentes

NH 55-E	BK 55-E	Wsb 55-E	Kr 58	Klo 58	Op 58	Gwh 58	Na 58
8	9	10	11	12	13	14	15
0	0, 0	0, 0	0, 0	0, 0	0, 0	0, 0, 0	0, 0, 0
0, 0	0, 0	0, 0	0	0, 0	1?, 0, 0	0, 0, 0	0, 0, 0
0, 0	0, 0	0, 0	0, 0	0	0	0, 0, 0	0, 0, 0
3	3		3		3 (2)	3	
3, 4, 5 (4)	4, 3, 4	4, 4, 5	4, 4	4, 3	4 (5)	5, 4	5, 4, 4
3	2	3	3	3		3	2
0 (1), 1	1	1 (2)	1	1, 1	1 (2), 1	0 (1), 1	2, 1
3, 4, 3	4, 4, 4	3, 4	4	4, 4	4, 3	4	
1 (2)	1		1 (2)			1 (2)	
4, 3	3, 3, 4	3, 3, 4	3, 4	4	4, 4	4	4
2, 3, 3	4, 3	3, 3	4, 3	4, 4	3, 4	4, 3, 4	4, 3, 4
3, 3	3 (4)	3	3, 3 (4)	3	3, 3	3 (4), 3	3, 3, 3
		1	1			1	
3, 3	2, 3	3, 3	3, 2	3, 3	3, 3	3, 3, 2	3, 3
1, 0	0, 1	1, 0, 0	0, 0	1, 0	0, 1	0, 0	0, 1
1, 0	0 (1)	0	1, 0	1, 0, 0	0 (1)	0	0 (1)
1, 1	1, 1, 0	1 (2)	1	1, 0	0	1	0
1, 1	1, 1	1 (2), 1	1	2	1	0, 1	1
1, 1	1, 0, 1	0, 1	1, 0	1, 0 (1)	1	1, 0	1, 1
1, 1	1, 1	0 (1), 1	1, 1	1, 0 (1)	1, 1	1	0 (1), 1
2, 1 (2)	0, 1	1, 1	1 (2)	1, 1	1	1, 0	1, 1
0 (1)	2, 1 (2), 1	1, 1	1, 1	1	1	1, 0	1 (2), 1
3 (4)	3, 3, 4	3, 4	3, 3	4, 3	4, 4	4, 4	4, 3, 4
3, 4	3 (2), 3	3	3, 1	3	1, 1 (3)	3	3, 3
1 (2), 1 (2)	0, 1	1, 1, 1	2	0 (1), 1	1	1	1 (2), 1, 1
4	4, 4	4, 3, 4	4, 5	4, 4	4	4, 5	4, 5, 4
5, 5	5, 5	5, 4	5, 5	5, 4	5, 4	5, 5	5, 4
5, 4	4, 5	4, 4, 5	4, 5	5	4	5, 4	4
4	4 (5)	4, 4	4	4	4 (5)	4	4
5, 5	4, 5	5	5, 4	5, 5	4, 5	5	5, 5
4	5	5, 5	4, 5	5, 5	5	5, 5	5
5	4	5	5	5, 4	4, 5	4	5
5	4	5	5	4	4		5
4	4, 4	4	4		4	4	
	4	5		4	5		4
4	4, 5		5, 4	4	4	4	
4				5 (4)	4	5, 4	5
2, 0 (2)	0, 2 (3), 2	2, 2	1, 0	1, 1	2, 1, 1	1, 1	0, 1
2, 3, 2	2	1, 2, 1, 2	2, 1	2	1, 2	2 (3), 2	2, 1
2, 2	1, 1, 2, 2	1 (2), 1	2, 1	1, 1	2, 1	1, 2	2
0, 1, 2 (3)	2, 3	2, 2	3 (2)	3	2	2, 3	2, 1, 3
3, 2, 2	2 (3)	2, 2	2, 3	2, 2	2, 3	3, 3	2 (3)
2, 3	2, 1	2 (3)	2, 2 (3)	1, 2	1, 1	2	2, 1, 2
1, 0	1, 0, 0 (1)	1	0, 1	1, 0, 0	0, 1 (2)	1, 1	0, 1
2, 2	1, 2	1, 2, 2 (3)	2, 2, 1	2, 1	1	2, 1	2, 1
3, 2, 3 (4)	1, 3, 2	1, 1	1, 2	2, 3	3, 0	0, 2	3
1, 1	2, 0, 1, 1	1, 1	0	1, 0	1, 1	0	1 (2), 1
2 (3), 1 (2)	2, 2, 1	2 (3)	2	1 (2)	2, 3	2, 1, 3 (2)	2
0 (2)	2, 0 (2), 0	0, 2	0, 2	0, 0	2, 0	0 (2)	2, 0, 0 (2)
0, 0	0 (2), 0 (2)	0 (1)	2, 0	2, 0 (2)	2, 0	2, 0 (2)	1
1, 1	1, 2	1 (2)	2	1, 2	2	2, 3	2
3, 4	3, 3	3, 3 (4)	4, 3	3	3 (2), 3	3	3, 2
4, 4	4, 4	3 (4)	3	4, 3	4	3	3, 4
3, 2, 2	2, 3	3, 4	3, 3	3, 2	2	2, 3	
4, 5, 4	3, 4	3, 4, 4	4	4	3	3, 4	4
3, 2 (4), 3	3 (4)	3, 2	3, 4		2	3	3 (4)
2, 3	3, 4	2, 3	4, 3	3, 3	3	4	3
3, 2	2, 3	4, 3, 3	3, 3	2, 3	3	3	3, 2
1 (2), 1	2, 1	1	2, 1	1, 1	2	1 (2)	2, 1
1, 2, 3 (2)	3, 2	2	3, 3	2, 3	2, 3	3, 2	3 (2)

derholt. Da SCHERZ (1943) eine Labilität der *Peronospora*-Resistenz bezogen auf die verschiedenen Altersstadien festgestellt hat — so soll bei Kreuzungen von europäischen mit amerikanischen Rebenformen (E × A) die Resistenz mit dem Alter laufend zunehmen, was aber bei Rückkreuzungen (E × A) × E nicht immer der Fall war —, wurde darauf geachtet, daß die Reben eines Testklones unter vollkommen gleichen Bedingungen heranwuchsen. Somit brauchten bei der Auswertung des *Peronospora*-Befalles keine unterschiedlichen Wachstums- oder Entwicklungszustände berücksichtigt zu werden.

Die Infektionen erfolgten in den Infektionskästen unter Glasglocken turnusmäßig, jeweils an 5 bis 12 Reben, die eine genügende Blattfläche ausgebildet hatten. Nach ungefähr 10 Tagen wurde der *Peronospora*-Befall ausgewertet. Um eindeutige Ergebnisse zu erhalten, wurde die Infektion an mehreren Pflanzen des gleichen Klones wiederholt. In der Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Infektionsversuche zusammengestellt. Es bedeuten:

Spalte 1: Die laufende Nummer der untersuchten Rebensorten, die nach ihrer Blutzusammensetzung, siehe Spalte 4, eingeordnet wurden;

Spalte 2: Die sogenannte „Hausnummer"; das ist die Bezifferung, die BÖRNER und SCHILDER (1934) in ihrem Sortimentsverzeichnis für alle Rebenherkünfte der Naumburger Sortimente eingeführt haben;

Spalte 3: Die Sortenbezeichnung, wie sie in der Weinbaupraxis üblich ist;

Spalte 4: Die Spezies oder bei Bastarden die ungefähre „Blutzusammensetzung". Es ist dies eine Kurzbezeichnung, die von SCHILDER (1946) eingeführt wurde und die vor allem bei komplizierten Bastarden einen schnellen Überblick gewährt, welche Arten bei der Entstehung dieser Sorte vermutlich beteiligt gewesen sind. Hierbei bedeuten:

A = *Vitis aestivalis* Michx.
B = *Vitis berlandieri* Planchon
C = *Vitis cinerea* Engelm.
D = *Vitis cordifolia* Michx.
E = *Vitis vinifera* L. (Europäische Kulturrebe)
F = *Vitis californica* Bentham
G = *Vitis coignetiae* Pulliat
L = *Vitis labrusca* L.
M = *Vitis monticola* Buckley
N = Nicht zur Gattung *Vitis* gehörige *Vitaceae* (*Ampelopsis*, *Parthenocissus*)
O = *Vitis romaneti* Rom. du Caill.
P = *Vitis pagnucii* Rom. du Caill.
R = *Vitis rupestris* Scheele
S = *Vitis solonis* (*V. riparia* × *V. candicans* ?)
V = *Vitis vulpina* L. = *V. riparia* Michx.
W = *Vitis silvestris* Gmelin (Europäische Wildrebe)
X = *Vitis amurensis* Rupr.
Z = *Vitis arizonica* Engelm.;

Spalte 5: Das Verhalten der *Peronospora*-Linien 1955/56 (Spalte 5 bis 10) und der *Peronospora*-Populationen 1958 (Spalte 11 bis 15) auf den Testreben gemäß Bonitierungsschema. Durch Komma getrennte Ziffern geben das Ergebnis wiederholter Infektionen von Reben des gleichen Klones an. Die Zahlen in Klammern bedeuten, daß einige Befallsstellen vom allgemeinen Befallsbild (Zahl außerhalb der Klammer) abwichen, z. B. 1 (2) = allgemeine Punktinfektion (1), aber an einigen Befallsstellen wenige Sporangienträger ausgebildet (2).

Aus den Infektionsversuchen ergaben sich keine Unterschiede in der Aggressivität der verwendeten *Peronospora*-Herkünfte. Es konnten wohl kleine Abweichungen im Befallsbild, besonders bei der Infektion der Artbastarde, festgestellt werden; doch berechtigen diese wohl kaum zur Aufstellung biologischer Rassen des Pilzes. Während bei einer Reihe von Wirtsklonen (bei den reinen Arten und Europäer-Edelsorten) das Befallsbild konstant war, war es bei anderen Wirtsklonen (z. B. bei den Artbastarden Of 5 N, Kober 5 BB, Teleki 4 A, Oberlin 595) größeren Schwankungen unterworfen.

Da sich aber auf diesen Wirten bei einer Wiederholung der Infektion mit der gleichen *Peronospora*-Herkunft des öfteren ein anderes Befallsbild zeigte, ist anzunehmen, daß die Aggressivität des Pilzes oder die Anfälligkeit des Wirtes in bestimmten Grenzen variieren.

Bemerkenswert ist, daß bei *Vitis rupestris* der Klon Dern viel anfälliger als der Klon Ganzin gegenüber allen *Peronospora*-Stämmen reagierte. Berlese (1902), Merschanian (1936), Viennot-Bourgin (1949) und Baldacci (1954) dagegen stellen *Vitis rupestris* zu den sehr resistenten *Vitis*-Arten, ohne auf die einzelnen *rupestris*-Klone einzugehen. Auch an *Vitis romaneti* konnte ein schwacher bis mittlerer *Peronospora*-Befall festgestellt werden, obgleich diese Art von Seeliger (1925) als „nicht befallen" aufgeführt wird.

Die Infektionen an *Ampelopsis*- und *Parthenocissus*-Reben des Testsortimentes waren unter den hierbei gewählten Bedingungen ohne Erfolg. Auch Müller-Thurgau (1924) und Pioth (1957) gelang es nicht, *Ampelopsis* und *Parthenocissus* künstlich mit *Peronospora* zu infizieren, ebenso bildet der Pilz nach Morel (1948) und Boubals (1957) auf Gewebekulturen von *Parthenocissus, Ampelopsis* und *Cissus* keine Sporangiophoren.

Dagegen gibt Wilson (1907) *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch. und *P. tricuspidata* (Sieb. et H. Zucc.) Planch. als Wirtspflanzen der *Peronospora viticola* an. Im Jahre 1880 will Pirrota schon das Auftreten von *Peronospora viticola* auf *Cissus*- und *Ampelopsis*-Arten in Italien beobachtet haben. Auch Farlow (1883) fand *Peronospora viticola* auf „*Ampelopsis quinquefolia*" am Minnetonka-See und Halsted (1889 a) auf *A. veitchii* bei New Brunswick in USA. In neuerer Zeit stellten Zschokke (1924) in der Pfalz, Lüstner (1924) im Rheingau, Muth (1925) in Rheinhessen und Ducomet (1925) und Simonet (1925) in Frankreich *Peronospora viticola* auf *Ampelopsis veitchii* fest. Marchionatto (1939) beobachtete den Falschen Rebenmehltau in Argentinien auf „*Parthenocissus tricuspidata* (Virginia creeper)", Conners und Savile (1944) in Kanada auf „*Parthenocissus*" und Deighton (1938) in Sierra Leone auf *Cissus caesia.*

Dieser Widerspruch zwischen den Ergebnissen künstlicher Infektionen und den Beobachtungen im Freiland sollte im folgenden überprüft werden, da ein Auftreten spezialisierter *Peronospora viticola*-Formen auf *Ampelopsis* und *Parthenocissus* nicht ausgeschlossen erschien.

Im Frühjahr 1958 wurden Blätter unterschiedlichen Alters von *Ampelopsis heterophylla* und *A. brevipedunculata* mit einer von *Vitis vinifera*

(Sorte Gutedel) isolierten *Peronospora*-Population (Na 57) infiziert und nach der Infektion verschiedenen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen ausgesetzt. Der Pilz bildete nur auf den *Ampelopsis*-Blättern, die unter den Verhältnissen des Frühjahrsaustriebes schnell herangewachsen und dabei relativ zart geblieben waren, Sporangienträgerrasen aus (Abb. 6). Die Befallsstellen entsprachen den Typen 3 oder 4 des Bewertungsschemas, nur verlief die Nekrosereaktion nicht zentrifugal von der Eindringungsstelle des Pilzes aus, sondern irisförmig von der Begrenzung des befallenen Interkostalfeldes nach innen; Punktinfektionen (Befallstyp 1 oder 2) wurden nur vereinzelt festgestellt. Von den *Ampelopsis*-Blättern konnte der Pilz — sowohl über drei Generationen auf einer *Ampelopsis*-Spezies als auch wechselweise von einer *Ampelopsis*-Spezies zur anderen — erfolgreich übertragen werden. Ebenfalls gelangen Reininfektionen von *Ampelopsis brev.* auf *Vitis vinifera* (Sorte Gutedel), *V. pagnuccii* und *V. rupestris* (Klon Dern). Vom Frühsommer bis zum Herbst 1958 waren dagegen auf den schneller hart oder lederig werdenden Blättern der gleichen *Ampelopsis*-Pflanzen die künstlichen Infektionen ohne Erfolg[1]).

Abb. 6. Befallsstellen von *Peronospora viticola* auf *Ampelopsis brevipedunculata*

Das unterschiedliche Verhalten der *Peronospora viticola* auf *Ampelopsis* braucht somit nicht auf das Vorliegen sich in ihrer Aggressivität unterscheidender *Peronospora-viticola*-Varietäten zurückgeführt zu werden, sondern läßt sich aus der stark alters- oder entwicklungsbedingten unterschiedlichen Befallsbereitschaft dieser Nicht-*Vitis*-Wirte erklären.

b) Fruktifikationszeit

Über die Inkubationszeit bzw. Fruktifikationszeit der *Peronospora viticola* liegt ein umfangreiches, aber stark voneinander abweichendes Be-

[1]) Entsprechende Versuche auf *Parthenocissus* wurden nicht durchgeführt.

obachtungsmaterial aus den verschiedenen Weinbaugebieten vor[1]) (Tab. 2). Für eine biologische Differenzierung der *Peronospora viticola* wäre von Bedeutung, ob die verschiedenen Herkünfte unter den gleichen ökologischen Verhältnissen Unterschiede in der Fruktifikationszeit[2]) aufweisen.

Da es nicht möglich ist, alle Faktoren zu lenken, die für die Fruktifikationszeit der *Peronospora* als bestimmend beschrieben worden sind, war ich bestrebt, die Unterschiede bei den Temperatur-, Licht- und Feuchtigkeitsbedingungen und im Entwicklungszustand der Wirtspflanzen durch parallele Kultur der einzelnen *Peronospora*-Stämme auf ein Minimum zu beschränken.

Es wurde bei der Erhaltungszucht der *Peronospora*-Herkünfte 1954 und 1955 in jedem Monat mindestens einmal die Fruktifikationszeit für jede Pilzherkunft ermittelt. Die Beobachtungen wurden einheitlich an Topfreben der Sorte Gutedel durchgeführt. Die mit den einzelnen Herkünften infizierten Reben standen hierbei unter gleichen Umweltbedingungen in den Infektionskästen der Herkünfte im Gewächshause. Ein Vergleich der ermittelten Werte (Tab. 3) zeigt, daß sich während eines Monats die Fruktifikationszeiten bei den einzelnen Herkünften nicht wesentlich voneinander unterscheiden (maximale Abweichung ± 1 Tag vom mittleren Wert; die Werte in Klammern müssen auf eine zu späte Beobachtung zurückgeführt werden). Die Fruktifikationszeit war bei allen Herkünften am Ende der winterlichen Heizungsperiode (März und April) und im Juli und August kürzer als in den übrigen Monaten, so daß sich aus einer Gegenüberstellung der Werte von Oktober 1954 bis August 1955 ebenfalls keine Unterschiede zwischen den Herkünften ergeben.

[1]) Über die verschiedenen äußeren Faktoren (Temperatur, Licht, Luftfeuchtigkeit, Ernährung der Rebe, Turgeszenzgrad und Alter der Blätter), die die Dauer der Inkubation bzw. Fruktifikation der *Peronospora viticola* bedingen, liegen rund 50 Veröffentlichungen vor, was sich aus der Bedeutung der Inkubations- bzw. Fruktifikationszeit für die Prognose des *Peronospora*-Befalles der Weinreben und für die Festlegung der Bekämpfungstermine erklären läßt (vgl. Grünzel 1957). Doch muß hierbei berücksichtigt werden, daß bei den einzelnen Autoren über den Inhalt des Begriffes „Inkubationszeit" keine Einigkeit besteht. Gäumann (1951) definiert Inkubation „als den parasitologisch entscheidenden Abschnitt zwischen der Infektion und dem Auftreten der ersten Krankheitssymptome, dem Ausbruch der Krankheit". Dagegen ist nach Milissavlyevitch (1950, 1951) und Branas (1953) die Inkubationszeit bei *Peronospora viticola* „die Zeit, die vergeht von der Infektion bis zu dem Augenblick, wo das Myzel fähig ist, Fruktifikationsorgane zu bilden". Diese Definition ist aber gleichbedeutend mit der von Gäumann (1951) für die „Fruktifikationszeit" gegebenen als „Zeitspanne zwischen dem Beginn der Infektion und dem Erscheinen der ersten Fruktifikationen des Erregers", d. h. vom Beginn der Infektion bis zu dem Augenblick, da der Wirt und die Umweltbedingungen dem Erreger die Fortpflanzung gestatten. Durch diese unterschiedliche Inhaltgebung des Begriffes „Inkubationszeit" lassen sich aber nicht die voneinander abweichenden Angaben über die Inkubationsdauer bzw. Fruktifikationsdauer der *Peronospora viticola* erklären.

[2]) In meinen Untersuchungen benutzte ich das weniger subjektive Maß der „Fruktifikationszeit" (im Sinne Gäumanns), denn das Erkennen der ersten Krankheitssymptome ist in starkem Maße vom Urteilsvermögen des Betrachters abhängig. Hinzu kommt noch, daß bei dem Wirt-Parasit-Verhältnis Rebe/*Peronospora* das Auftreten der ersten Befallssymptome, die Ölfleckenbildung, durch Wirtssorte und Standortbedingungen modifiziert wird.

Tabelle 2 Angaben über die Inkubationsdauer bei *Peronospora viticola*

Autor	Gebiet		Inkubationsdauer (in Tagen) bis Mitte Mai	Ende Mai	Anfang Juni	Mitte Juni	Ende Juni	Juli	August
Istvanffi und Palinkas (1914)	Ungarn	bei normaler Witterung. Blätter	15—18	12—15	11–13	9—11	6–7	5–6	5—6
		dgl., Gescheine und Beeren		12–14	12—14	9—11	10—12	12—14	12—14
		bei warmer Witterung, Blätter		10—12	8—10	6—8	6—8	4—5	4—5
		dgl., Gescheine und Beeren			9—11	7—9	7—9	8—10	8—10
Müller und Sleumer (1934)	Freiburg (Br.)/Deutschland	an Blättern	15—18	12—15	12–14	9—10	6–7	5–6	5—6
		an Gescheinen und Beeren		12—14	12—14	9—11	10—12	12—14	12—14
		nach Inkubationskurve	10	8	6—7	7—8	6—7	5—6	5—6
		nach Inkubationskalender	15—18	12—15	10—13	8—10	6—7	5—6	5—6
Prohaszka (1952)	Ungarn	an Blättern	15—18	12—15	11—13	9—11	6–7	5–6	4—5
		an Trauben	15—18	12—15	11—13	9—11	11—13	13—15	14—18
Kondarev (1953)	Plovdiv/Bulgarien		4½—9½	4½—9	3½—4½	3½—4½	3½—4½	3½—4½	
Prinz (n. Kondarev 1953)	Helenendorf/Aserbaidshan (SSR)		5—9	5—9	5—7	5—7	5—7	4—5	
Rodrian (1956)	Oppenheim/Deutschland		15—18	15–18	10—12	10—12	10—12	3—4	3–4
Henner (1959)	Österreich		14—18	12—16	10—13	8—10	5—8	5	5
Capus (1916)	Frankreich	bei mittlerer Temperatur von 18 °C 13 Tage, bei mittlerer Temperatur von 22 °C 6 Tage;							
Faes, Tonduz und Staehelin (1922)	Lausanne/Schweiz	im Sommer 7—11 Tage;							
Billeau und Russ (1925)	Moldau	nach Primärinfektion 9 Tage, nach Folgeinfektion 7—8 Tage;							
Chabrolin (1931)	Tunis	7 Tage;							
Ravaz (1930, 1933)	Montpellier/Frankreich	konstant 7 Tage;							
Constantinescu-Ismail (1932)	Rumänien	im Jahre 1932 konstant 7—8 Tage; im Jahre 1940 nach 1. bis 4. Infektion 11—17 Tage, dann 6—8 Tage;							
Prinz (1933)	Helenendorf/Aserbaidshan (SSR)	konstant 5—6 Tage;							
Zillig (1936)	Bernkastel-Kues/Deutschland	in der Rebschule im Juli und August 5 Tage;							
Schad (1936)	Clermont-Ferrand/Frankreich	konstant 8 Tage, nur nach Primärinfektion 9 Tage;							
	Montpellier/Frankreich	konstant 7 Tage, nur nach Primärinfektion 9 Tage;							
Vivet (1940)	Algerien	< 4 Tage;							
Milissavlyevitch (1949, 1951)	Vojvodina/Jugoslawien	bei Temperaturen zwischen 14,8 °C und 27,7 °C konstant 5 Tage; bei kühler Witterung im Mai oder sehr heißer Witterung im Juli 6 oder > 6 Tage;							
Korotkova (1954)	Dongebiet/UdSSR	bis 11—14 Tage;							
Jakovljevitch (1955)	Krain/Jugoslawien	4— 5 Tage;							
Heymer (1956)	Deutschland	Beeren in feuchter Kammer: 7—11 Tage.							

Während des Frühsommers 1956 wurden Topfreben zum gleichen Zeitpunkt mit mehreren Einsporvermehrungen infiziert und der Ausbruch der Sporangienträger verfolgt.

Die *Peronospora*-Linien NH 55-E, Na 55-E, BK 55-E, Ge 55-E, Fr 55-E und Wsb 55-E wurden am 4. 6. 1956, 10.00 Uhr, getrennt auf Topfreben der Sorte Gutedel übertragen. Bei der Bonitierung am 7. 6. 1956, 22.10 Uhr, ließen sich noch keine *Peronospora*-Rasen feststellen. Ein leichter Ausbruch des Pilzes war am folgenden Morgen (8. 6. 56, 10.30 Uhr) bei allen Herkünften wahrzunehmen.

Da unter annähernd optimalen Kulturverhältnissen keine Unterschiede festzustellen waren, wurde im folgenden die Fruktifikationsdauer am Temperaturmaximum und -minimum des Entwicklungsbereiches der *Peronospora viticola* untersucht. Je vier Gutedelreben wurden am 11. 6. 56 mit denselben sechs *Peronospora*-Linien bei rund 20 °C infiziert. Am folgenden Tage wurden von jeder Infektionsreihe zwei Reben in den Brutschrank bei + 30 °C und zwei Reben in einen temperaturkonstanten Raum von + 10 bis + 12 °C gestellt. Am 20. 6. — also 9 Tage nach der Infektion — traten bei allen Reben im Brutschrank die ersten Sporangienträger auf. Eine Woche später, am 26. 6. — 15 Tage nach der Infektion — erfolgte eine schwache Sporulation auch auf den bei 10 bis 12 °C aufbewahrten Reben. Abweichungen, die sich auf die verwendeten *Peronospora*-Stämme zurückführen ließen, wurden nicht festgestellt; die Pilzrasen traten nur dort anfänglich stärker in Erscheinung, wo die Infektionsdichte — wie es sich aus der später bestimmten Gesamtzahl der angegangenen Infektionen ergab — höher war.

c) Oosporenbildung

Über die Häufigkeit des Auftretens von Oosporen liegt eine Reihe sich teilweise widersprechender Beobachtungen vor. Prillieux (1881) fand Oosporen r e i c h l i c h in den französischen Rebenpflanzungen, während Farlow (1882) und Istvanffi und Palinkas (1913) angeben, nur s e l t e n Oosporen gesehen zu haben. Wortmann (1919) bezweifelt sogar, „daß bei der sehr großen Seltenheit der Oosporen ... das Neuauftreten des Pilzes lediglich eine Folge der Keimung dieser Sporen ist". Pioth (1957) „fand sie von Herbst 1952 bis Frühjahr 1955 in Freilandmaterial überhaupt nicht, in Gewächshausmaterial nur einmal im Januar 1954 in mehreren Blättern".

In Algerien stellte Vivet (1940) nur selten, in Indien Venkatarayan (1956) keine Oosporen in *Peronospora*-infizierten Rebblättern fest. Dagegen weisen Müller und Sleumer (1934) darauf hin, „daß die Oosporen ungeheuer häufig sind". Arens (1929 a) fand sie in den Jahren 1923 bis 1926 überall im fränkischen Weinbaugebiet. Nach Sarejanni (1951) treten sie in Südgriechenland bei bestimmten Witterungsverhältnissen in großer Anzahl auf. In Gewebekulturen von *Vitis*, die mit *Peronospora* beimpft wurden, beobachtete Morel (1944) keine Oosporenbildung.

Im Herbst 1952 wurden über 700 spontan mit *Peronospora* befallene Blätter aus den Anlagen des Naumburger Institutes untersucht, ohne daß

Tabelle 3 Die Fruktifikationszeit bei vom Oktober 1954

	Herkunft			
	G 54	Gwh 54	Ka 54	Kr 54
Infiziert am	14. 10.	—	16. 10.	18. 10.
Pilzrasen beobachtet am	21. 10.		22. 10.	25. 10.
Fruktifikationszeit < (Tage)	7		6	7
Infiziert am	9. 11.	10. 11.	9. 11.	16. 11.
Pilzrasen beobachtet am	16. 11.	18. 11.	17. 11.	24. 11.
Fruktifikationszeit < (Tage)	7	8	8	8
Infiziert am	1. 12.	7. 12.	4. 12.	1. 12.
Pilzrasen beobachtet am	6. 12.	13. 12.	8. 12.	6. 12.
Fruktifikationszeit < (Tage)	5	6	4	5
Infiziert am	30. 12.	22. 12.	23. 12.	21. 12.
Pilzrasen beobachtet am	5. 1.	27. 12.	28. 12.	27. 12
Fruktifikationszeit < (Tage)	5	5	5	6
Infiziert am	15. 1.	10. 1.	11. 1.	19. 1.
Pilzrasen beobachtet am	20. 1.	15. 1.	15. 1.	24. 1.
Fruktifikationszeit < (Tage)	5	5	4	5
Infiziert am	12. 2.	8. 2.	9. 2.	17. 2.
Pilzrasen beobachtet am	17. 2.	12. 2.	14. 2.	22. 2.
Fruktifikationszeit < (Tage)	5	4	5	5
Infiziert am	1. 3.	3. 3.	4. 3.	2. 3.
Pilzrasen beobachtet am	5. 3.	7. 3.	8. 3.	7. 3.
Fruktifikationszeit < (Tage)	4	4	4	5
Infiziert am	28. 3.	31. 3.	30. 3.	25. 3.
Pilzrasen beobachtet am	2. 4.	5. 4.	4. 4.	29. 3.
Fruktifikationszeit < (Tage)	5	5	5	4
Infiziert am	19. 4.	21. 4.	20. 4.	22. 4.
Pilzrasen beobachtet am	23. 4.	26. 4.	25. 4.	26. 4.
Fruktifikationszeit < (Tage)	4	5	5	4
Infiziert am	12. 5.	17. 5.	14. 5.	16. 5.
Pilzrasen beobachtet am	18. 5.	23. 5.	19. 5.	21. 5.
Fruktifikationszeit < (Tage)	6	6	5	5
Infiziert am	8. 6.	2. 6.	11. 6.	13. 6.
Pilzrasen beobachtet am	13. 6.	7. 6.	16. 6.	18. 6.
Fruktifikationszeit < (Tage)	5	5	5	5
Infiziert am	8. 7.	18. 7.	14. 7.	12. 7.
Pilzrasen beobachtet am	13. 7.	22. 7.	18. 7.	16. 7.
Fruktifikationszeit < (Tage)	5	4	4	4
Infiziert am	6. 8.	2. 8.	12. 8.	20. 8.
Pilzrasen beobachtet am	10. 8.	6. 8.	17. 8.	24. 8.
Fruktifikationszeit < (Tage)	4	4	5	4

den *Peronospora*-Herkünften *Tabelle 3*
bis August 1955

Herkunft						
Na 54	NH 54	Oc 54	Op 54	Ros 54	Ve 54	Wsb 54
—	30. 10.	22. 10.	23. 10.	23. 10.	22. 10.	25. 10.
	5. 11.	28. 10.	29. 10.	29. 10.	29. 10.	1. 11.
	6	6	6	6	7	7
15. 11.	15. 11.	18. 11.	6. 11.	12. 11.	10. 11.	16. 11.
22. 11.	22. 11.	24. 11.	15. 11.	19. 11.	18. 11.	24. 11.
7	7	6	(9)	7	8	8
30. 11.	29. 11.	30. 11.	8. 12.	3. 12.	7. 12.	2. 12.
6. 12.	4. 12.	6. 12.	13. 12.	8. 12.	11. 12.	7. 12.
6	5	6	5	5	4	5
3. 1.	18. 12.	20. 12.	21. 12.	23. 12.	20. 12	27. 12.
8. 1.	23. 12.	27. 12.	27. 12.	28. 12.	27. 12.	31. 12.
5	5	(7)	6	5	(7)	4
14. 1.	13. 1.	17. 1.	20. 1.	24. 1.	18. 1.	13. 1.
19. 1.	18. 1.	22. 1.	24. 1.	29. 1.	22. 1.	18. 1.
5	5	5	4	5	4	5
11. 2.	10. 2.	15. 2.	14. 2.	7. 2.	3. 2.	16. 2.
16. 2.	15. 2.	19. 2.	19. 2.	12. 2.	7. 2.	21. 2.
5	5	4	5	5	4	5
1. 3.	25. 2.	4. 3.	3. 3.	5. 3.	7. 3.	2. 3.
5. 3.	2. 3.	8. 3.	8. 3.	10. 3.	12. 3.	7. 3.
4	5	4	5	5	5	5
21. 3.	22. 3.	23. 3.	25. 3.	24. 3.	24. 3.	29. 3.
25. 3.	26. 3.	28. 3.	28. 3.	28. 3.	28. 3.	2. 4.
4	4	5	3	4	4	4
23. 4.	16. 4.	18. 4.	15. 4.	21. 4.	12. 4.	16. 4.
27. 4.	20. 4	22. 4.	20. 4.	26. 4.	16. 4.	21. 4.
4	4	4	5	5	4	5
18. 5.	21. 5.	11. 5.	10. 5.	13. 5.	20. 5.	9. 5.
25. 5.	27. 5.	16. 5.	16. 5.	18. 5.	27. 5.	14. 5.
7	6	5	6	5	7	5
15. 6.	14. 6.	7. 6.	9. 6.	10. 6.	16. 6.	18. 6.
20. 6.	18. 6.	11. 6.	14. 6.	15. 6.	20. 6.	22. 6.
5	4	4	5	5	4	4
16. 7.	11. 7.	20. 7.	22. 7.	21. 7.	13. 7.	9. 7.
19. 7.	15. 7.	23. 7.	26. 7.	25. 7.	18. 7.	13. 7.
3	4	3	4	4	(5)	4
1. 8.	10. 8.	16. 8.	5. 8.	4. 8.	12. 8.	16. 8.
5. 8.	15. 8.	20. 8.	9. 8.	8. 8.	17. 8.	20. 8.
4	5	4	4	4	5	4

jemals Oosporen festgestellt werden konnten. Erst durch die künstliche Infektion von Topfreben mit anderen Herkünften des Pilzes gelang es, Anfang November 1952 eine größere Anzahl von Oosporen zu erhalten.

Doch sollte die Beobachtung einer unterschiedlichen Neigung zur Oosporenbildung bei den einzelnen Herkünften durch eine parallele Kultur der Herkünfte unter gleichen Umweltbedingungen gesichert werden. Es diente hierzu die Erhaltungskultur der *Peronospora*-Herkünfte und -Einsporvermehrungen. Die nach der Abimpfung jedes Pilzstammes frei werdenden befallenen Rebblätter (*Vitis vinifera*) wurden systematisch auf Oosporen untersucht. Die in der Tabelle 4 zusammengestellten Befunde bestätigen das Vorkommen von *Peronospora*-Herkünften mit verschieden starker Neigung zur Oosporenbildung. Durch starke Oosporenbildung zeichneten sich die Herkünfte BK 52 und NH 54, durch das völlige Ausbleiben der Bildung von Oosporen die Herkünfte Ge 54, Klo 54 und Wsb 54 aus, während die übrigen Herkünfte mit einer schwachen Oosporenbildung zwischen den Extremen lagen.

Tabelle 4

Die Bildung von Oosporen bei verschiedenen Herkünften und Einsporvermehrungen der *Peronospora viticola*

Peronospora-kultur	Anzahl der untersuchten Blätter	Anzahl der untersuchten Befallsstellen	Befallsstellen mit Oosporen
Na 52	über 700		0
Na 52—E1	~ 30		0
Na 52—E2	30		0
Na 52—E3	30		0
Sh 52	30		7
Go 52	30		0
Gwh 52	6		2
Bk 52	30		45
Bk 52—E1	30		0
Bk 52—E2	30		0
Bk 54	4	8	0
Gwh 54	102	312	12 = 3,9 %
Ge 54	93	372	0
Ka 54	62	222	8 = 3,6 %
Klo 54	3	2	0
Kr 54	72	286	8 = 2,8 %
Na 54	51	195	4 = 2,0 %
NH 54	76	294	35 = 12,0 %
Oc 54	34	174	1 = 0,6 %
Op 54	55	268	3 = 1,6 %
Ros 54	60	270	7 = 2,6 %
Ve 54	59	272	7 = 2,5 %
Wsb 54	39	192	0

Auffallenderweise scheinen Einsporvermehrungen aus oosporenbildenden Herkünften die Neigung zur Oosporenbildung zu verlieren. So wurden am 1. November 1952 drei Topfreben infiziert:

Rebe Nr. 1 mit der Einsporlinie BK 52-E 1,
Rebe Nr. 2 mit der Einsporlinie BK 52-E 2,
Rebe Nr. 3 mit der Herkunft BK 52.

Schon am 12. November war eine reichliche Oosporenbildung auf der Rebe Nr. 3 zu verzeichnen, während in den Reben Nr. 1 und Nr. 2 keine Oosporen festgestellt werden konnten. In den Infektionsflecken der Einsporlinien Na 52-E 2 und Na 52-E 3, die von September 1952 bis Juni 1953 unter verschiedenen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen und auf verschiedenem Blattmaterial kultiviert worden sind, wie an den Einsporvermehrungen Na 55-E, Fr 55-E, Ge 55-E, NH 55-E, BK 55-E und Wsb 55-E, die ich für die Aggressivitätsuntersuchungen verwendet habe, wurden ebenfalls keine Oosporen gefunden.

Im Herbst 1953 wurden aus der Herkunft NH 53, die sich durch eine besonders große Neigung zur Oosporenbildung auszeichnete, 6 Einsporlinien isoliert. Infektionen mit einzelnen dieser Linien, aber auch Infektionen mit einem Sporangiengemisch von 2 oder 3 Linien führten zu keiner Oosporenbildung, während in den mit der Herkunft selbst infizierten Blättern wiederholt Oosporen beobachtet wurden.

Ähnliche Verhältnisse stellten Johnson und Valleau (1954) an 35 Einsporisolierungen von *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* fest. Nur 2 ihrer Kulturen besaßen Antheridien, die restlichen 33 Oogonien. Oosporen bildeten sich auf Agarnährböden nur, wenn ein „Antheridien-Stamm" mit einem „Oogonien-Stamm" gekreuzt wurde.

Auf Grund der Untersuchungsergebnisse[1]) kann angenommen werden, daß Einsporlinien des Pilzes nicht in der Lage sind, Oosporen auszubilden. Weiterhin kann angenommen werden, daß nur in Populationen, die geschlechtsphysiologisch unterschiedlich gestimmte Linien enthalten, beim Zusammentreffen der konträren Geschlechtsorgane (Oogon und Antheridium) das Sexualprodukt, die Oospore, entstehen kann.

Ist also das Vorhandensein von mindestens zwei heterothallischen Linien in einer *Peronospora viticola*-Kultur Voraussetzung für die Oosporenbildung, so erklären sich sowohl die in der Literatur angegebenen lokalen Unterschiede als auch das verschiedene Verhalten der hier untersuchten *Peronospora*-Herkünfte. Eine Differenzierung der *Peronospora viticola* in Biotypen nach der unterschiedlichen Neigung zur Oosporenbildung wäre somit sehr fragwürdig.

Struktur und Größe der Oosporen wurden bei den *Peronospora viticola*-Herkünften nicht untersucht.

Schon Berlese (1898) weist auf den geringen taxonomischen Wert der Struktur der Oosporenwandung hin. Nach Leonian und Geer (1929) (bei *Phytophthora*), Clayton und Stevenson (1943) (bei *Peronospora tabacina*) und Gustavsson (1959 a) (bei *Peronospora*) ist die Größe der Oogonien und Oosporen einer starken Variabilität unterworfen. Nach

[1]) Weitere Untersuchungen, über die an anderer Stelle berichtet werden soll, zeigten, daß die Oosporenbildung bei *Peronospora viticola* vom Entwicklungszustand und der spezifischen Resistenz der Wirtsorgane stark abhängig ist.

SCHWINN (1959) sind die Oosporenmaße bei *Phytophthora* in engen Grenzen konstant, doch schränkt die Übereinstimmung bei mehreren Arten ihren systematischen Wert ein. Eine Variabilität der Oosporengröße auf der gleichen Wirtspflanze konnte SCHWEIZER (1919) bei *Bremia lactucae* beobachten. Daß die Oosporengröße vom Nährsubstrat abhängig ist, berichtet auch SCHULTZ (1942) für *Pythium*.

IV. UNTERSUCHUNGEN ZUR MORPHOLOGISCHEN DIFFERENZIERUNG

a) Größe und Form der Sporangien

Längen- und Breitenmessungen an Sporangien sollten darüber Auskunft geben, ob im mitteleuropäischen Raum morphologisch unterschied-

Tabelle 5

Angaben über die Größe der Sporangien von *Peronospora viticola* in Europa

Autor	Gebiet	Länge in µ		Breite in µ
PRILLIEUX (n. VIALA 1887)	Frankreich	15	×	10
CORNU (n. VIALA 1887)	„	16	×	12,2
MILLARDET (n. VIALA 1887)	„	17—50	×	12—15
VIALA (1887)	„	∅ 16	×	10
		min. 10		
		max. 45	×	20
ZIMMERMANN (1887)	Deutschland	12—22	×	8,5—12,5
FISCHER (1892)	„	12,5—30	×	8,5—17
BERLESE (1902)	Italien	17—30	×	12—16
MIGULA (1910)	Deutschland	12—30	×	8—17
ISTVANFFI und PALINKAS (1913)	Ungarn	17—25	×	10—16
		„macroconidies“:		
		35—40	×	25
RIEHM (1923)	—	12—13	×	8—17
SĂVULESCU (1941 b)	Rumänien	14—30	×	10—18
SĂVULESCU und SĂVULESCU (1951)	„	17—30	×	10—16
GOLOVINA (1955)				
Material von:				
NEVODOVSKI (1909)	UdSSR-Ukraine	20—28	×	15—20
LEBEDEVA (1910)	„ -Cherson	20—25	×	15—20
DJAKONOVA (1914)	„ -Moldau	20—28	×	15—20
NOVOPOKROCKI (1919)	„ -Dongebiet	10—15	×	8—12
BONDARZEV (1931)	„ -Krim	15—20	×	13—15
PAMFILOVA (1940)	„ -Krim	15—20	×	13—15
RAZIBORSKI (1909)	Polen	15—22	×	13—15
BUBAK (1897)	Tschechoslowakei	8—12	×	7—10
BRIOSI und KAVAR (1888)	Italien	18—27	×	15—20
LUDWIG (1919)	Frankreich	19—25	×	5—17
TERRI (1879)	„	14—22	×	8—12
MAJERNIK (1955)	Tschechoslowakei	20,15	×	16,5
VIENNOT-BOURGIN (1956)	Frankreich	17—25	×	10—16
PIOTH (1957)	Deutschland	∅ 10,4	×	9,5
		min. 6,2	×	5,3
		max. 32,8	×	15,4

Tabelle 6 Sporangienmessungen an den *Peronospora*-Herkünften

Herkunft	Messung am	Länge M μ	Länge σ μ	Länge Typ.-Werte μ	Länge v	Breite M μ	Breite σ μ	Breite Typ.-Werte μ	Breite v	Länge-Breite-Index
Ge 54	1. 12. 54	17,08	2,82	14,2—19,9	16,51	13,32	1,78	11,5—15,1	13,36	1,28
	17. 1. 55	12,01	1,65	10,4—13,7	13,74	9,7	1,05	8,7—10,8	10,82	1,24
Gwh 54	7. 12. 54	13,42	2,42	11,0—15,8	18,03	10,9	1,73	9,2—12,6	15,87	1,23
	8. 1. 55	11,64	1,52	10,1—13,2	13,06	9,5	1,02	8,5—10,5	10,74	1,23
Ka 54	25. 11. 54	12,2	1,51	10,7—13,7	12,38	10,06	1,03	9,0—11,1	10,24	1,21
	9. 2. 55	11,8	1,85	10,0—13,6	15,68	9,54	1,39	8,2—10,9	14,57	1,24
Kr 54	2. 12. 54	11,83	1,38	10,4—13,2	11,67	9,62	0,89	8,7—10,5	9,25	1,23
	4. 2. 55	11,86	1,34	10,5—13,2	11,30	9,89	0,99	8,9—10,9	10,01	1,20
Na 54	30. 11. 54	13,86	1,69	12,2—15,6	12,19	11,26	1,15	10,1—12,4	10,21	1,23
	14. 1. 55	10,36	1,43	8,9—11,8	13,80	8,79	1,01	7,8— 9,8	11,49	1,18
NH 54	29. 11. 54	12,52	2,09	10,4—14,6	16,69	10,36	1,43	8,9—11,8	13,80	1,21
	13. 1. 55	11,66	1,67	10,0—13,3	14,32	10,20	1,30	8,9—11,5	12,75	1,14
Oc 54	21. 12. 54	14,22	1,52	12,7—15,7	10,69	11,43	1,10	10,3—12,5	9,62	1,24
	18. 1. 55	11,84	1,79	10,0—13,6	15,12	9,87	1,39	8,5—11,3	14,08	1,20
Op 54	23. 11. 54	14,92	2,30	12,6—17,2	15,42	12,78	2,57	10,2—15,4	20,11	1,17
	14. 2. 55	13,39	1,75	11,6—15,1	13,07	10,99	1,29	9,7—12,3	11,74	1,22
Ros 54	26. 11. 54	14,03	1,96	12,1—16,0	13,97	10,98	1,51	9,5—12,5	13,75	1,28
	7. 2. 55	14,06	2,06	12,0—16,1	14,65	11,22	1,16	10,1—12,4	10,34	1,25
Ve 54	8. 12. 54	13,20	2,06	11,1—15,3	15,61	11,04	1,43	9,6—12,5	12,95	1,20
	18. 1. 55	12,36	1,75	10,6—14,1	14,16	9,97	0,87	9,1—10,8	8,73	1,24
Wsb 54	2. 12. 54	10,62	1,57	9,1—12,2	14,78	8,91	0,77	8,1— 9,7	8,64	1,19
	16. 2. 55	13,40	2,56	10,8—16,0	19,10	10,91	1,71	9,2—12,6	15,67	1,23

liche Typen der *Peronospora viticola* auftreten. Die von verschiedenen Autoren bisher durchgeführten Sporangienmessungen ergaben beträchtliche Abweichungen voneinander (Tab. 5).

Von einer direkten Messung des Sporangienmaterials aus den Herkunftsgebieten wurde abgesehen, da das Alter dieser Pilzrasen wie die meteorologischen Bedingungen, denen sie während ihrer Entwicklung ausgesetzt waren, nicht mehr festgestellt werden konnten. Erst die auf Topfreben der Sorte Gutedel und unter gleichen Umweltverhältnissen im Gewächshaus kultivierten *Peronospora*-Herkünfte wurden vergleichend untersucht. Die Messungen erfolgten ungefähr 10 Tage nach der Infektion, d. h. ungefähr 6 Tage nach dem Ablauf der Fruktifikationszeit, an lebenden Sporangien im Wasser-Deckglas-Präparat. Gemessen wurde — um Wiederholungen zu vermeiden, auf dem Mikroskop-Kreuztisch — mit einem geeichten Meßokular die Länge L der Sporangien vom Ansatzpunkt des Sterigmas bis zur Scheitelpapille und die darauf senkrechte maximale Breite B. Der Länge-Breite-Index, auch als Rundungsquotient bezeichnet, ist das Verhältnis von mittlerer Länge zu mittlerer Breite bei den Sporangien einer Meßserie. Der Mittelwert M der Länge oder Breite und die dazugehörige Standardabweichung σ und der Variabilitätskoeffizient v wurden nach den allgemein gebräuchlichen variationsstatistischen Methoden bestimmt.

Im November und Dezember 1954 wurden von 11 *Peronospora*-Herkünften je 300[1]) fertig ausgebildete Sporangien gemessen und ausgewertet. Im Abstand von zwei Monaten wurden die Messungen an den gleichen Pilzherkünften und unter denselben Bedingungen wiederholt (Tab. 6). In erster Linie wurde darauf geachtet, daß die Außenbedingungen sowohl innerhalb einer Versuchsserie wie auch bei der Wiederholung konstant blieben.

Die Messungen der ersten Versuchsserie ergaben Werte, die für ein Vorhandensein morphologisch erfaßbarer Unterschiede zumindest bei einigen Herkünften sprachen. So waren die Sporangien der Herkunft Geisenheim annähernd doppelt so groß wie die der Herkunft Weinsberg. Ein ganz anderes Ergebnis hatten die Messungen der zweiten Versuchsserie. Es fanden sich wohl auch hier große Unterschiede bei einigen Herkünften, doch konnte keine Übereinstimmung mit den Werten aus der ersten Versuchsserie festgestellt werden. Die Mittelwerte aus der zweiten Messung waren bis auf die Herkunft Weinsberg kleiner als in der ersten. Andererseits aber war die Streuung in der ersten Versuchsserie teils kleiner, teils größer als in der zweiten. Es wäre danach verfehlt, aus einmal festgestellten Größen- oder Formunterschieden der Sporangien Schlüsse auf morphologische Rassenunterschiede bei *Peronospora viticola* zu ziehen. Der Einfluß von Außenbedingungen auf die Größenverhältnisse der Sporangien scheint außerordentlich stark zu sein. Demnach ist auch ein Vergleich von Ergebnissen verschiedener Autoren nur sehr bedingt möglich.

[1]) Nach SCHWEIZER (1919) und HOLM (1946) genügen 100 Messungen an Sporangien von *Bremia lactucae* bzw. von *Plasmopara laserpitii*, um gesicherte Mittelwerte zu erhalten.

Tabelle 7

Variation der Sporangienmaße durch verschiedene Wirtsarten

Einspor-ver mehrung	*Vitis*-Art	n	Länge				Breite				Länge-Breite-Index
			M μ	σ μ	Typ.-Werte μ	v	M μ	σ μ	Typ.-Werte μ	v	
Fr 55—E	*vinifera*	200	16,99	1,93	15,1 — 18,9	11,36	13,23	1,66	11,6 — 14,9	12,55	1,28
	arizonica	200	17,15	2,09	15,1 — 19,2	12,19	12,48	1,69	10,8 — 14,2	13,54	1,37
	pagnuccii	200	17,37	1,86	15,5 — 19,2	10,71	14,65	1,25	13,4 — 15,9	8,53	1,19
Na 55—E	*vinifera*	250	17,04	2,02	15,0 — 19,1	11,85	14,02	1,33	12,7 — 15,4	9,49	1,22
	coignetiae	250	16,53	1,78	14,8 — 18,3	10,77	12,74	1,26	11,5 — 14,0	9,89	1,30
	rupestris Klon Dern	225	19,28	2,65	16,6 — 21,9	13,74	15,13	2,45	12,7 — 17,6	16,19	1,27

Tabelle 8

Sporangienmessungen an *Peronospora*-Einsporvermehrungen

Einspor-vermehrung	n	Länge				Breite				Länge-Breite-Index
		M μ	σ μ	Typ.-Werte μ	v	M μ	σ μ	Typ.-Werte μ	v	
Fr 55—E	250	16,72	2,47	14,3—19,2	14,77	12,90	1,84	11,1—14,7	14,26	1,30
Ge 55—E	250	16,66	1,84	14,8—18,5	11,04	13,54	1,41	12,1—14,9	10,41	1,23
Na 55—E	255	17,59	2,32	15,3—19,9	13,19	13,61	1,62	12,0—15,2	11,90	1,29
NH 55—E	245	16,71	2,20	14,5—18,9	13,17	12,92	1,62	11,3—14,5	12,54	1,29
Wsb 55—E	250	16,58	2,28	14,3—18,9	13,75	12,60	1,56	11,0—14,1	12,38	1,32

Wie stark die durch die Wirtspflanze bedingten Größenschwankungen sein können, geht aus Tabelle 7 hervor. Die Einsporvermehrungen Fr 55-E und Na 55-E wurden im Mai 1956 auf je drei verschiedene *Vitis*-Arten übertragen und die Sporangien von allen Wirten zum gleichen Zeitpunkt ausgemessen. Die Ergebnisse dieses Versuches zeigen nicht nur die modifizierende Wirkung des Wirtes auf die Länge und Breite der Sporangien, sondern auch auf die Sporangienform. Die von SĂVULESCU (1941 b) als typisch für die *Peronospora viticola*-Formen beschriebenen Länge-Breite-Indizes konnten somit durch eine Infektion mit idiotypisch einheitlichem *Peronospora*-Material auf verschiedenen *Vitis*-Arten „künstlich" erzeugt werden.

Ein weiterer Versuch (Tab. 8) stellt andererseits dar, welchen Einfluß nahezu gleiche Umweltbedingungen auf Einsporvermehrungen aus verschiedenen Herkünften ausüben. Die Einsporvermehrungen wurden Ende Mai 1956 nahezu gleichzeitig auf Topfreben übertragen und nach 10 Tagen gemessen. Die Unterschiede der Mittelwerte und der Variabilität zwischen den einzelnen *Peronospora*-Linien sind relativ gering.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Plastizität von Form und Größe der Sporangien von *Peronospora viticola* so stark zu sein scheint, daß eine morphologische Abgrenzung einzelner Herkünfte oder Einsporvermehrungen des Pilzes nicht möglich ist.

b) Größe und Form der Sporangienträger

Neben der Sporangienform und -größe charakterisierten SĂVULESCU (1941 b) und GOLOVINA (1955) die *Peronospora viticola*-Formen nach den Sporangienträgern.

Schon die ersten eigenen Versuche zeigten eine stark umweltbedingte Variabilität der Sporangienträger. So wurde festgestellt, daß die in der Literatur allgemein 100 bis 500 μ groß beschriebenen Sporangiophoren bei hoher Luftfeuchtigkeit bis 1200 μ groß werden. Sie weisen dann sehr viele Verzweigungen mit vielen Sterigmen und Sporangien auf. Bei geringerer Luftfeuchtigkeit waren die Sporenrasen auf dem befallenen Blatt viel dichter, doch die einzelnen Sporangienträger kleiner und weniger verzweigt. War die Luft sehr trocken, so nahmen die Sporangiophoren eine abnorme Gestalt (mit langen Sterigmen) an. Am Rande der kleinen Nekroseflecke von widerstandsfähigen Rebsorten wurden wiederholt auffallend „hochstämmige" Sporangiophoren festgestellt.

Diese umweltbedingte Variation von Form und Größe der Sporangiophoren bei *Peronospora viticola* wurde auch von ISTVANFFI und PALINKAS (1913) und von ARENS (1929 b) beschrieben.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam SCHWEIZER (1919) bei *Bremia lactucae:* Im Freien aufgewachsene Konidienträger maßen 200 bis 500 μ, die unter Glasglocken aufgewachsenen 500 bis 900 μ. Hohe Luftfeuchtigkeit reduzierte die Anzahl der Sterigmen. HALSTED (1889 b) beobachtete, daß die Konidienträger einer auf *Rorippa islandica* auftretenden *Peronospora* in Trockenperioden auf ein Viertel ihrer normalen Länge verkürzt wurden. Übermäßig hohe Luftfeuchtigkeit bewirkte bei *Sclerospora graminicola* an Stelle der Konidienbildung eine sekundäre Verzweigung der Konidienträger (SAFEEULLA und THIRUMALACHAR 1956).

Gäumann (1918 a) fand eine Steigerung der Konidienträgergröße durch höhere Luftfeuchtigkeit, doch konnte er keinen Einfluß der Außenbedingungen auf die Form der Endgabeln von *Peronospora parasitica* feststellen. Dagegen weist Jaczewsky (1901) auf die Veränderlichkeit der Ästeverzweigung und auf die Abhängigkeit der Gabelkrümmungen vom Lichte hin. Wartenweiler (1918 b) deutete an, daß die Maße der Sporangiophoren durch Milieueinflüsse stark variieren, so daß eine Auswertung der Form nur subjektiv durchgeführt werden kann.

Aus den Versuchen und der Diskussion ergibt sich, daß metrische Untersuchungen an Sporangienträgern von *Peronospora viticola* wegen der stark milieubedingten Variabilität stets mit einem großen Fehler behaftet sind. Rein morphologisch-vergleichende Untersuchungen an diesem Objekt haben dagegen den Nachteil der nur subjektiven Vergleichsmöglichkeit. Aus diesen dargelegten Gründen wurden Form und Größe der Sporangienträger nicht ausgewertet.

V. UNTERSUCHUNGEN ZUR PHYSIOLOGISCHEN DIFFERENZIERUNG

a) Keimungsmodus der Sporangien

Bei den *Peronosporaceae* können die Sporangien indirekt (durch Zoosporen) oder direkt (mit einem Keimschlauch) auskeimen. Die Klärung des Keimungsmodus war für die systematische Stellung des Falschen Mehltaues der Weinreben von Bedeutung (vgl. Grünzel 1959). De Bary (1863) kannte den Keimungsmodus bei *Peronospora viticola* noch nicht; erst Farlow (1883) stellte den Pilz, da er die Keimung der Sporangien mit Zoosporen mehrfach beobachtet hatte, zur Sektion I *Zoosporiparae* der Gattung *Peronospora* Corda. Dieser Keimungsmodus scheint bei *Peronospora viticola* die Regel zu sein; daneben wurde aber auch die Bildung eines Keimschlauches bei der Sporangienkeimung beschrieben oder abgebildet (Patrigeon 1881, Frechou 1885, Scribner 1886, Viala 1887, 1893, Istvanffi und Palinkas 1913, Eriksson 1928). Maier (1941) beobachtete in Geisenheim, daß in einer *Peronospora*-Kultur bis Ende Juni (bei + 25 °C) 52 % der Sporangien mit Zoosporen und 12 % mit Keimschlauch keimten.

In diesem Zusammenhang sind auch die Feststellungen von Krüger (1940) und Harvey (1954) von Interesse, wonach bei zwei Herkünften von *Phytophthora infestans* der prozentuale Anteil beider Keimungsarten (Zoosporen- und Keimschlauchbildung) verschieden hoch war.

Die direkte Keimung der *Peronospora viticola*-Sporangien bei bestimmten Herkünften ist für die Epidemiologie des Pilzes von Bedeutung. Die Prognosemethoden und Bekämpfungsmaßnahmen setzen voraus, daß die *Peronospora*-Infektion der Reben nur erfolgen kann, wenn mehrere Stunden lang das für das Schwärmen der Zoosporen benötigte tropfbar flüssige Wasser auf den Blättern, Gescheinen oder Beeren vorhanden ist. Bei einer Keimschlauchbildung könnte dagegen die Infektion schon bei höherer Luftfeuchtigkeit — ohne daß die Rebenorgane benetzt sein müssen — erfolgen.

Zur Ermittlung von Unterschieden im Keimungsmodus wurden 1953 bis 1958 die Sporangien bei den Übertragungen der *Peronospora*-Populationen und -Einsporlinien auf ihre Keimungsweise hin geprüft.

Tabelle 9 Die Fungizid-Empfindlichkeit verschiedener
(Durchschnittliche Anzahl der Befallsstellen

Wirkstoff	Präparat	konz. in %	Herkunft								
			Op — 58					Fr — 58			
			Versuchsserie								
			I	II	III	VI	VIII	I	II	III	IV
Zineb	ZB 80	0,2	0 0			0 0	0 0	0 0			0 0
Ziram	Z 70	0,2	0 1,1			0 0,1	0 0	0,13 0,13			0 0
Ferbam	F 70	0,2	0,13 1,0			0 0,1	0 0	0,16 0,5			0 0
Captan	Cpt 50	0,2		0 0		0 0	0 0		0 0		0 0
Thiuram (TMTD)	SPT 80	0,2		0 0		0,7 0	0 0		0 0		
Phygon	P 11	0,25		0 0		0 0,3	0 0		0 0		0 0
Phaltan	P 28	0,2			0 0	0 0	0 0			0 0	0 0
Rhodandinitrobenzol	W 6559	0,3			0 0	0 0	0 0			0 0	0 0
Kupferoxychlorid	Cupral 45	0,5			0 0	0 0	0 0			0,3 0,9	
Unbehandelt			4,6 3,0	0,9 5,3	0,9 0,7	37,7 39	4,4 10,3	~100 25,3	>100 >100	~100 ~100	~100 >100

Versuchsserie I : Reben mit Fungizid behandelt am 5. 5. 1959
" II : " " " " " 22. 5. 1959
" III :
" IV : " " " " " 22. 6. 1959
" V : " " " " " 22. 6. 1959
" VI : " " " " " 23. 7. 1959
" VII : " " " " " 30. 7. 1959
" VIII: " " " " " 11. 8. 1959

Weiterhin wurden methodisch die Arbeiten von CROSIER (1933, 1934) und HYRE und COX (1953), die verschiedene Temperaturoptima für die zwei Keimungsmodi bei *Phytophthora infestans* bzw. *P. phaseoli* fanden, von BLACKWELL und WATERHOUSE (1931), wonach der Keimungsmodus bei *Phytophthora* in erster Linie vom Alter der Kulturen und der Sporen abhängt, von KRÜGER (1940), der eine Stimulation der Sporangienkeimung bei *P. infestans* durch bestimmte Elektrolytkonzentrationen im Keimmedium feststellen konnte, von TAYLOR, CARLTON u. a. (1954) und TAYLOR, SMOOT u. a. (1955), wonach bei einer kurzfristigen Exposition der Sporangien von *Phytophthora* bei 40 °C der Anteil der direkt keimenden Sporangien erhöht, die Zoosporenbildung aber vermindert wurde, berücksichtigt. Meine Untersuchungen, auch bei Verwendung von 0,2 bis 0,001 mol abgestuften Lösungen von

erkünfte der *Peronospora viticola* *Tabelle 9*
Blatt nach Fungizidbehandlung)

Herkunft														
Kr — 58				Na — 58		Mo — 58		Gwh — 58		Wsb — 58			NH — 58	Klo — 58
Versuchsserie														
I	III	VII	VIII	I	V	I	III	II	III	II	VI	VII	II	VI
0,08		0	0	0	0	0					0	0		0,7
0,2		0	0	0	0	0					0	0		0
2,4		0,3	0	0,14	0	1,8					0	0,13		0,6
7,5		0,3	0	0,8	0	1,7					0	0		0,2
3,1		0,05	0	0,4	0	1,2					0	0		0
0,13		0	0	0,07	0,5	0,1					0	0		0
		0	0		0			0		0	0	0	0	0
		0	0		0			0		0	0	0,1	0	0
		0,4	0					0		0	0	0	0	0
		0,1	0					0		0	0	0,1	0	0
		0	0		0			0		0	0	0	0	0
		0	0		0			0		0	0	0	0	0
	0	0	0		0		0		0		0			0
	0	0	0		0		0		0		0			0
	0,5	0	0		0		0		0		0	0		0
	0,08	0	0		0		0		0		0	0		0
	0,7	0,5	1,7				5,2		0,2		0,1	0		3
	0,2	0,6	1,8				15,8		0,2		0	0		7
1,2	9,7	~100	~60	~100	1,3	10,1	>100	~100	10	6,9	11,6	24	21,9	~100
~100	13,7	~80	~45	10,6	8	52	>100	~100	1,4	0,13	5	18	~100	~100

infiziert am 11. 5. 1959 bonitiert am 19. 5. 1959
„ „ 25. 5. 1959 „ „ 1. 6. 1959
„ „ 8. 6. 1959 „ „ 16. 6. 1959
„ „ 23. 6. 1959 „ „ 29. 6. 1959
„ „ 23. 6. 1959 „ „ 4. 7. 1959
„ „ 24. 7. 1959 „ „ 30. 7. 1959
„ „ 31. 7. 1959 „ „ 7. 8. 1959
„ „ 12. 8. 1959 „ „ 18. 8. 1959

KNO_3, Mg $(NO_3)_2$, und $Ca(NO_3)_2$ als Keimmedium und bei Exposition der *Peronospora*-Sporangien bei zeitlich befristeten Temperaturen zwischen — 20 ° und + 50 °C ergaben keinen sicheren Nachweis einer direkten Sporangienkeimung bei einem der untersuchten *Peronospora viticola*-Stämme.

b) Schwärmdauer

Für die Epidemiologie der *Peronospora viticola* ist sowohl die „Keimdauer" (Zeitspanne, die für die Keimung des Sporangiums und die Entlassung der Zoosporen benötigt wird) als auch die „Schwärmdauer" (Zeitspanne, in der eine Sporangien-Zoosporen-Suspension ihre Infektionsfähigkeit beibehält) von Bedeutung. Vergleichsversuche, die mit den Linien Na 55-E und NH 55-E im Rahmen von Untersuchungen über die Vitalität der

Sporangien und Zoosporen von *Peronospora viticola* und ihre Abhängigkeit von ökologischen Faktoren durchgeführt wurden, ergaben keine Unterschiede (vgl. GRÜNZEL 1957, S. 107).

c) Empfindlichkeit gegen Fungizide

Während in früheren Jahrzehnten nur kupferhaltige Fungizide zur *Peronospora*-Bekämpfung eingesetzt wurden, kamen in den letzten Jahren kupferfreie organische Präparate (Thiocarbamate, Thiurame, Benzol- und Chinolinverbindungen, Captan, Phaltan) stärker zur Anwendung. Bemerkenswert ist, daß bei der Mittelprüfung und auch im praktischen Einsatz mit den gleichen fungiziden Wirkstoffen in den einzelnen Weinbaugebieten unterschiedliche Ergebnisse erzielt wurden.

Ein exakter Vergleich der Prüfungsergebnisse aus verschiedenen Gebieten ist aber nicht möglich, da in den einzelnen Weinbauorten auch bei gleichzeitigem Einsatz der Mittel die übrigen Faktoren (Lage, Sorte, Schnitt und Wachstum der Reben, meteorologische und edaphische Bedingungen, Auftreten der Krankheit) niemals übereinstimmen. Inwieweit Unterschiede in der Fungizid-Empfindlichkeit des *Peronospora*-Pilzes selbst für die nicht übereinstimmenden Ergebnisse verantwortlich zu machen sind, sollte im folgenden Versuch einer Klärung nähergebracht werden.

Auf e i n e r Rebenanlage im Freiland, die mit dem gleichen Fungizid behandelt worden ist — also unter gleichen Bedingungen — die verschiedenen *Peronospora*-Herkünfte anzusiedeln, würde, da die Herkünfte sich bald vermischten, zu keinem eindeutigen Ergebnis führen. Deshalb wurden Topfreben mit den Fungizid-Präparaten gespritzt und nach dem Antrocknen des Spritzbelages mit den *Peronospora*-Herkünften infiziert.

Für diese Untersuchungen wurden nur *Vinifera*-Reben, die in der Regel 10 bis 20 kräftige Blätter ausgebildet hatten, verwendet. Die Testung der Fungizid-Empfindlichkeit erfolgte mit neun verschiedenen Wirkstoffen (Zineb, Ziram, Ferbam, Captan, Phaltan, Thiuram, Phygon, Rhodandinitrobenzol, Kupferoxychlorid)[1]) in der üblichen Anwendungskonzentration. Nachdem mit einer Handspritze die Fungizid-Präparate gleichmäßig, insbesondere auf die Blattunterseiten, aufgetragen worden waren, wurden in den Infektionskästen — in jeder Versuchsserie für jede *Peronospora*-Herkunft zwei mit dem gleichen Fungizid behandelte — Reben unter Glasglocken aufgestellt. Um spätere Fehlbonitierungen auszuschalten, wurden die Triebspitzen mit den nur mangelhaft fungizidgeschützten Blattanlagen vor der Infektion entfernt. 6 bis 12 Tage nach der Infektion wurden die Befallsstellen auf den einzelnen Blättern ausgezählt und die durchschnittliche Anzahl der Befallsstellen je Blatt für jede Rebe errechnet (Tab. 9; die eng untereinander stehenden Zahlen beziehen sich auf die zwei mit dem gleichen Fungizid behandelten und mit der gleichen *Peronospora*-Herkunft infizierten Reben einer Versuchsserie).

[1]) Die Präparate wurden freundlicherweise von den VEB Berlin-Chemie, VEB Elektrochemisches Kombinat Bitterfeld, VEB Fahlberg-List Magdeburg und VEB Farbenfabrik Wolfen zur Verfügung gestellt.

Ein direkter Vergleich der Infektionsergebnisse mehrerer Herkünfte untereinander ist nur bei Berücksichtigung des Infektionsergebnisses auf der jeweiligen unbehandelten Kontrolle möglich; denn die zum gleichen Zeitpunkt mit verschiedenen Populationen (von verschiedenen Reben!) angesetzten Sporensuspensionen müssen sich in ihrer Zusammensetzung (Anzahl, Wachstums- und Entwicklungszustand der Sporangien) zwangsläufig unterscheiden, was in der voneinander abweichenden Infektionsdichte auf den unbehandelten Kontrollen innerhalb einer Versuchsserie zum Ausdruck kommt.

In der Versuchsserie I wurden die Herkünfte Oppenheim, Freiburg, Kreuznach, Naumburg und Moldau gegen die Thiocarbamate Zineb, Ziram und Ferbam getestet. Da die Infektionen erst 6 Tage nach der Fungizid-Behandlung der Reben erfolgten, erklärt sich der — wenn auch geringe — Befall bei allen Herkünften auf den mit Ziram und Ferbam behandelten Reben. In den folgenden Versuchsserien wurde deshalb der zeitliche Abstand zwischen Fungizid-Behandlung und Infektion verkürzt. In der Versuchsserie II wurden 5 Herkünfte gegen Captan, Thiuram und Phygon und in der Versuchsserie III ebenfalls 5 Herkünfte gegen Phaltan, Rhodandinitrobenzol und Kupferoxychlorid getestet. Da sich die jeweils 5 Herkünfte in ihrer Empfindlichkeit gegenüber den einzelnen Fungiziden nicht merklich unterschieden, wurde in den folgenden Versuchsserien IV bis VIII das Verhalten einzelner Herkünfte gegenüber 7 bis 9 Fungiziden gleichzeitig getestet, um wenigstens innerhalb einer Herkunft Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber den verschiedenen fungiziden Wirkstoffen feststellen zu können.

Gegenüber allen untersuchten *Peronospora*-Herkünften erwiesen sich Zineb, Captan, Phygon, Phaltan und Rhodandinitrobenzol fungizid voll und Ziram, Ferbam und Thiuram bis auf wenige Ausnahmen ebenfalls voll wirksam. Hierbei muß berücksichtigt werden, daß die Infektionsdichte allgemein weit höher als unter den natürlichen Infektionsbedingungen im Freiland lag. Etwas weniger empfindlich reagierten dagegen einzelne Herkünfte (Fr, Kr, Mo, Klo) auf das verwendete Kupferoxychlorid-Präparat. Bemerkenswert ist hierbei der — durch Wiederholungen bestätigte — Reaktionsunterschied zwischen Op 58 und Kr 58. Inwieweit diese Differenz wirklich idiotypisch oder nur durch die zufällig geringere Infektionsdichte von Op 58 bedingt war, muß in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

VI. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Während Săvulescu (1941 b) und Golovina (1955) die Existenz von morphologischen Formen oder Varietäten der *Peronospora viticola* nachweisen konnten, Santilli (1956, 1957, 1958) einen „California strain" beschrieb, Procenko (1946) sogar eine neue Spezies *Plasmopara amurensis* von *P. viticola* abtrennte und auch von seiten der Weinbau- und Pflanzenschutzpraxis das Auftreten physiologisch differenzierter *Peronospora*-Stämme erwogen wurde, konnten Scherz (1938), Baldacci (1944) und Peyronel (1949) keine intraspezifische Differenzierung beim Falschen Mehltau der Weinrebe in Europa feststellen.

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Längen- und Breitenmessungen an Sporangien von verschiedenen, unter gleichen Umweltverhältnissen kultivierten Herkünften gaben keinen Anhaltspunkt für ein Vorhandensein morphologisch differenzierter Formen der *Peronospora viticola* im mitteleuropäischen Raum. Es wurde demgegenüber bei allen Herkünften eine starke Modifikabilität der Form und Größe der Sporangien festgestellt. Die von SĂVULESCU als typisch für die einzelnen *Peronospora viticola*-Formen beschriebenen Länge-Breite-Indizes konnten mit ein und derselben Einsporvermehrung auf verschiedenen Wirtsarten im Infektionsversuch erzielt werden.

Eine durch Temperatur, Feuchtigkeit, Jahreszeit und andere Faktoren bedingte morphologische Variabilität der Konidien wird u. a. von ANGELL und HILL (1932) und von CLAYTON und STEVENSON (1943) bei *Peronospora tabacina* Adam, von THUNG (1926) und von HAMMARLUND (1931) bei *P. parasitica*, von RICHARDS (1939) bei *P. spinaciae* Laub., von UPPAL und WESTON (1936) bei *Sclerospora philippinensis* Weston und von LING und TAI (1945) bei *Bremia lactucae* beschrieben. Auf den formverändernden Einfluß der Wirtspflanze auf die Sporangien haben besonders SCHWEIZER (1919) bei *Bremia lactucae* und HOLM (1946) bei *Plasmopara umbelliferarum* hingewiesen. SCHWEIZER verwendete wegen des zu geringen Differierens der Längen- und Breiten m i t t e l w e r t e der Konidien die „beträchtlichen" Unterschiede in ihrer „Variations w e i t e" zur Aufstellung seiner „kleinen Arten" von *Bremia lactucae*. Nach HOLM unterliegt nur das Ausmaß und nicht die Form der Sporangien der Variation, so daß es ihm trotz der großen Variationsbreite der Sporangienmaße möglich war, auf Grund der Sporangienform verschiedene „microspecies" von *Plasmopara umbelliferarum* zu unterscheiden.

Bei *Peronospora viticola* fanden weder die Ansichten von SCHWEIZER noch die von HOLM eine Bestätigung. Die Variationsbreite der Sporangiengröße wie die Sporangienform erwiesen sich als stark variable Merkmale. Unterschiede in der „Variationsweite" der Sporangien von verschiedenen *Peronospora*-Herkünften, die unter gleichen Umweltbedingungen herangezogen wurden, konnten nicht beobachtet werden, sondern im Gegensatz dazu war eine wesentliche Veränderung der Variationsbreite jeweils ein und derselben Herkunft bei zeitlich verschiedenen Abimpfungen festzustellen.

Bei *Phytophthora* hat LEONIAN (1927) nachgewiesen, daß die Sporengröße kein konstantes Merkmal ist, sondern in starkem Maße davon abhängt, auf welchem Wirt der Pilz die Sporen hervorgebracht hat. LEONIAN und GEER (1929) schreiben: "Even the different strains of the same species vary so much that their sporangia cover the entire scale of sizes known in the reproductive bodies of Phytophthoras, the size factor can not be of primary importance in taxonomy." Auf die große morphologische Plastizität der Rassen von *Phytophthora infestans* verweisen auch LEHMANN (1938) und DE BRUYN (1951). Nach LEHMANN erscheint eine morphologische Abgrenzung der einzelnen Rassen kaum möglich, da die einmal festgestellten Unterschiede in der Konidiengröße sich nicht reproduzieren ließen. HOWATT und GRAINGER (1955) beobachteten eine beträchtliche Variabilität der *Phytophthora infestans*-Rassen, wodurch sich große Schwierigkeiten bei der Rassendifferenzierung und -identifizierung ergaben. Die phänotypische Variabilität der *Peronosporaceae* veranschaulicht die von CHRISTENSEN, STAKMAN und CHRISTENSEN (1947) angeführte *Pythiomorpha gonapodyides* Peterson, eine im Wasser lebende Pythiee, die, auf Agar kultiviert, sich als identisch mit *Phytophthora megasperma* Drechs. erwies.

Von diesen Befunden ausgehend, scheint mir die Kritik, die REED (1935) an der auf kleine Unterschiede in der Größe und Form der Konidien basierenden Untergliederung und Neuaufstellung von *Peronospora*-Arten durch GÄUMANN geübt hat, als berechtigt.

Auch Gustavsson (1959 b) lehnt das Gäumannsche Verfahren — von der Konidienmessung einzelner Populationen auf verschiedenen Wirtsarten ausgehend, neue *Peronospora*-Spezies aufzustellen — ab, akzeptiert aber grundsätzlich — soweit kreuzweise Übertragungsversuche mit dem Pilz vorgenommen wurden — die von Gäumann begründete, auf Wirtsarten aufbauende *Peronospora*-Taxonomie.

Yerkes und Shaw (1959) stellten bei *Peronospora*-Konidien von verschiedenen *Cruciferae* wie von verschiedenen *Chenopodiaceae* keine Größenunterschiede, die die Aufstellung spezifischer *Peronospora*-Arten rechtfertigen, fest und fassen deshalb die von Gäumann u. a. auf Wirtsarten bezogenen *Peronospora*-Spezies wieder zu *Peronospora parasitica* auf *Cruciferae* und *Peronospora farinosa* auf *Chenopodiaceae* zusammen. In diesem Zusammenhang wird auch die Ansicht Hoerners, *Pseudoperonospora urticae* (Lib.) Salm. et Ware, *P. cannabina* (Otth.) Curzi, *P. celtides* (Waite) Wils. und *P. humuli* (Miy. et Tak.) Wils. als physiologische Rassen einer Art zu betrachten, angeführt.

Eine Aufgliederung der auf Vitaceen parasitierenden *Peronospora*-Spezies in verschiedene Arten auf Grund einiger morphologischer Unterschiede (vgl. *Plasmopara amurensis* Proc.), scheint mir deshalb keineswegs vertretbar; dagegen wäre die Aufstellung von morphologischen Varietäten innerhalb der *Peronospora viticola* — aber nur bei einer erwiesenen Konstanz der Merkmalsunterschiede — berechtigt.

Aus verschiedenen Herkünften von *Vitis vinifera* isolierte 6 Einsporvermehrungen sowie 5 weitere Herkunfts-Populationen von *Peronospora viticola* zeigten in Infektionsversuchen Affinität zu allen untersuchten Arten und Formen der Gattung *Vitis*. Die quantitativen Unterschiede in der Aggressivität verschiedener *Peronospora*-Stämme auf einem Wirtsklon waren niemals so erheblich, daß sie sich auf das Vorhandensein parasitologischer oder physiologischer Rassen (Biotypen) des Pilzes zurückführen ließen.

Es gibt wohl sehr nahe verwandte *Vitis*-Arten, was in ihrer morphologischen Ähnlichkeit und in ihrer Bastardierungsfähigkeit mit fertilen Nachkommen zum Ausdruck kommt; es wurden aber Typen aus allen Artgruppen (Serien) der Untergattung *Euvitis* (Viala und Péchoutre 1910, de Lattin 1939, Suessenguth 1953) in die Infektionsversuche einbezogen. Die interspezifischen Übertragungen des Pilzes, die in jedem Falle Erfolg hatten, zeigen, daß die von Gäumann und Săvulescu wiederholt beschriebene Spezifität von Wirtsart und *Peronospora*-Art für die Gattung *Vitis* und die untersuchten mitteleuropäischen Populationen der *Peronospora viticola* nicht zutrifft.

Über das Verhältnis der auf *Vitis*-Arten parasitierenden *Peronospora viticola* zu anderen Wirtsgattungen kann erst nach weiteren Infektionsversuchen endgültig entschieden werden. Daß es sich bei der von Farlow (1883), Halsted (1889 a), Wilson (1907), Zschokke (1924), Lüstner (1924), Muth (1925), Ducomet (1925), Simonet (1925), Marchionatto (1939) und Conners und Savile (1944) auf *Parthenocissus* und *Ampelopsis* beschriebenen *Peronospora* um einen besonderen Biotyp handelt, scheint nach der 1958 geglückten Übertragung der Naumburger *Peronospora*-Herkunft von Gutedel auf *Ampelopsis brevipedunculata* und *A. heterophylla* und der Reinfektion des Pilzes von *Ampelopsis* auf verschiedene *Vitis*-Arten unwahrscheinlich zu sein. Auf die sich aus der *Peronospora*-Übertragung von einer Wirtsgattung zur anderen ergebenden Konsequenzen für die *Peronospora*-Taxonomie soll hier nur hingewiesen werden.

Inwieweit die von PROCENKO (1946) beschriebenen Merkmale der *Plasmopara amurensis* konstant sind, kann nur aus Überimpfungen des Pilzes von *Vitis amurensis* auf andere *Vitis*-Arten festgestellt werden. Das gleiche gilt für SANTILLIS California-Strain, dessen Aggressivität parallel mit anderen *Peronospora viticola*-Herkünften auf einem größeren *Vitis*-Sortiment getestet werden müßte. In diesem Zusammenhang ist die Ansicht PEYRONELS, daß sich vor allem in Amerika eine mehr oder weniger deutliche Differenzierung der *Peronospora viticola* zeigen müßte und daß die nach Europa eingeschleppte Population möglicherweise nur einer Rasse angehört, von Interesse.

Sollte sich durch weitere Untersuchungen die Existenz heterothallischer Linien bei *Peronospora viticola* bestätigen lassen, so kann das lokal unterschiedliche Auftreten von Oosporen — wie es sich aus einer Gegenüberstellung der Beobachtungen von ARENS, MÜLLER und SLEUMER sowie von SAREJANNI auf der einen und von ISTVANFFI und PALINKAS, von WORTMANN, VIVET, VENKATARAYAN und PIOTH auf der anderen Seite ergibt — aus einem Vorhandensein oder Nichtvorhandensein geschlechtsphysiologisch unterschiedlich gestimmter *Peronospora*-Linien erklärt werden.

Soweit bekannt ist, verhalten sich die Arten der *Peronosporaccae* geschlechtsphysiologisch uneinheitlich. Homothallie wurde für mehrere *Pythium*-Arten (VANTERPOOL 1939), *Phytophthora phaseoli* (HYRE und COX 1953) und *Peronospora arborescens* (BEHR 1956) beschrieben, während ASHBY (1929) für *Phytophthora palmivora* Butl. (*P. faberi* Maubl.), NARASIMHAN (1930) und VENKATARAYAN (1932) für *Phytophthora arecae* und JOHNSON und VALLEAU (1954) für *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* Heterothallie nachgewiesen haben. LEONIAN (1931) stellte bei *Phytophthora omnivora* und DE BRUYN (1937) bei *Peronospora parasitica* homothallische Linien, heterothallische Linien und solche, die eine Zwischenstellung einnehmen, fest. APPLE (1959) fand bei *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* homothallische Linien und selbststerile Linien, die erst in gemeinsamer Kultur mit anderen *P. parasitica*- oder mit *P. capsici*-Stämmen Oosporen ausbildeten. Bei *Phytophthora infestans* wurden zwei sexuell unterschiedliche Gruppen, die sich auch in ihrer geographischen Verbreitung unterschieden, festgestellt (SMOOT, GOUGH, LAMEY, EICHENMULLER und GALLEGLY 1958, GALLEGLY und GALINDO 1958). Die Oosporenbildung von Paarlingen der gleichen Gruppe war gering, dagegen fand nach der Paarung von zwei Kulturen aus verschiedenen Gruppen eine reichliche Oosporenbildung statt.

Meine Untersuchungen über Fruktifikationsdauer, Keimungsmodus, Schwärmdauer und Fungizid-Empfindlichkeit ergaben ebenfalls keinen gesicherten Nachweis für die Existenz physiologisch differenter Formen der *Peronospora viticola* in Mitteleuropa.

Die voneinander abweichenden Angaben in der Literatur sind wahrscheinlich auf lokal unterschiedliche Einwirkungen bestimmter Außenfaktoren auf den physiologischen Zustand der *Peronospora* oder der Weinrebe oder auf das Wirt-Parasit-Verhältnis direkt zurückzuführen.

Deshalb soll aber nicht außer acht gelassen werden, daß jederzeit aus einer morphologisch, physiologisch oder parasitologisch homogenen Population der *Peronospora viticola* heraus sich Typen (Linien, Varietäten, Rassen) differenzieren können, die sich in alternativen Merkmalen oder in der Variationsbreite eines oder mehrerer fluktuierender Merkmale von der Ausgangspopulation unterscheiden.

Graham (1955) nimmt an, daß *Phytophthora infestans* heterokaryotisch ist und der natürliche Wirt sowie der künstliche Nährboden selektierend wirken. Neben der Selektion aus einer vorhandenen *Phytophthora infestans*-Population durch Anbau resistenter Kartoffelsorten kann die Neubildung von Biotypen weiterhin durch Mutation oder durch allmähliche Umwandlung eines Biotyps durch Anpassung an resistente Wirtspflanzen erfolgen (de Bruyn 1951, Howard 1953, Kaiser 1955). So berichten Schick, Schick und Hausdörfer (1958), daß spezialisierte Rassen hauptsächlich in Zuchtstationen und auf Hybridsorten gefunden werden.

Buddenhagen (1958) erzielte bei *Phytophthora cactorum* durch UV-Bestrahlung Mutanten, die sich morphologisch und physiologisch und in ihrer Pathogenität von dem Ausgangsstamm unterschieden.

Schick, Schick und Hausdörfer (1958) stellten fest, daß die höher spezialisierten *Phytophthora infestans*-Rassen gegen Ende der Vegetationsperiode zunehmen, lehnen aber die von Mastenbroek und de Bruin (1955) und Toxopeus (1956) geäußerte Ansicht, wonach die höher spezialisierten Rassen nicht — oder nur selten — überwintern und erst im Laufe der Vegetationsperiode durch Mutation neu entstehen, ab.

Sollte sich bestätigen, daß die Oosporen der *Peronospora viticola* nur beim Verschmelzen der Sexualorgane eines Myzels mit den Sexualorganen eines geschlechtsphysiologisch anders gearteten Myzels — also heterothallisch — gebildet werden, dann ist weiterhin die Möglichkeit gegeben, daß verschiedene Erbmassen zusammentreffen und die Neukombinationen differierende Stämme ergeben.

Für die praktische Resistenzzüchtung ist von Interesse, daß auf Grund der bisherigen Ergebnisse, insbesondere der Aggressivitätsuntersuchungen, keine Anzeichen für eine Differenzierung der in Mitteleuropa auftretenden *Peronospora viticola*-Populationen in Varietäten oder Biotypen mit unterschiedlichem Wirtsspektrum vorliegen.

Da Fruktifikationsdauer, Keim- und Schwärmverhältnisse und Fungizid-Empfindlichkeit sich bei den verschiedenen Herkünften als übereinstimmend erwiesen haben, kann angenommen werden, daß die an einem Ort (also an einer Herkunft) gewonnenen Daten auf andere mitteleuropäische Weinbaugebiete — natürlich unter Berücksichtigung der jeweiligen meteorologischen, edaphischen und Wachstumsfaktoren — übertragen werden können, was für die Prognose des *Peronospora*-Befalles und für die Bekämpfungsmaßnahmen im praktischen Rebschutz sehr wichtig ist.

Zusammenfassung

Herkunfts-Populationen und Einspor-Linien der *Peronospora viticola* aus den Weinbaugebieten Mitteleuropas wurden auf pathologische, morphologische und physiologische Unterschiede, die die Aufstellung von morphologischen oder biologischen Varietäten (Morphotypen bzw. Biotypen, formae speciales oder physiologischen Rassen) rechtfertigen würden, untersucht.

1. Infektionsversuche auf einem 60 *Vitis*-Arten und -Sorten umfassenden Testsortiment ergaben keine Unterschiede in der Aggressivität. Sämtliche *Peronospora*-Stämme zeigten Affinität zu allen verwendeten *Vitis*-Arten. Darüber hinaus gelang die Übertragung der *Peronospora viticola* auf

Ampelopsis brevipedunculata und *A. heterophylla* und die Reinfektion von diesen auf *Vitis vinifera, V. pagnuccii* und *V. rupestris.*

2. Unterschiede in der Fruktifikationsdauer unter normalen Verhältnissen wie unter extremen Temperaturbedingungen wurden nicht festgestellt.

3. Das unterschiedliche Auftreten von Oosporen kann wahrscheinlich — neben den Faktoren, die durch Wirtspflanze und Umwelt gegeben sind —, auf das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein geschlechtsphysiologisch unterschiedlich gestimmter Linien in einer Population, also auf eine heterothallisch bedingte Oosporogenese, zurückgeführt werden.

4. Variationsstatistische Messungen an den Sporangien ergaben keine morphologische Differenzierung. Dagegen konnte eine bedeutende Modifikabilität von Form und Größe der Sporangien, auch durch verschiedene Wirtsarten bedingt, nachgewiesen werden.

Größe und Verzweigung der Sporangienträger erwiesen sich als zu stark milieuabhängig, um sie als Differenzierungsmerkmale verwenden zu können.

5. Keimungsmodus der Sporangien und Schwärmdauer stimmten bei allen untersuchten Kulturen überein.

6. Die Fungizid-Präparate auf Zineb-, Captan-, Phygon-, Phaltan- und Rhodandinitrobenzol-Basis erwiesen sich gegenüber allen untersuchten *Peronospora*-Herkünften voll wirksam. Geringfügige Befallsunterschiede wurden bei den Ziram-, Ferbam-, Thiuram- und Kupferoxychlorid-Präparaten festgestellt.

Diese Befunde werden mit den an anderen *Peronosporaceae*-Arten gewonnenen Ergebnissen verglichen.

Summary

Studies on the biological differentiation of downy mildew of vines (*Peronospora viticola* de Bary)

Populations of different provenance and single-spore lines of *Peronospora viticola* from the vine-growing areas of Central Europa were studied in respect of pathological, morphological and physiological differences that might justify the establishment of morphological or biological varieties (morphotypes or biotypes, formae speciales or phvsiologic races).

1) Infection experiments on a test collection cromprising 60 *Vitis* species and cultivars revealed no differences in aggressivity. All *Peronospora* strains showed affinity with all the *Vitis* species employed. In addition to this it was possible to transfer *Peronospora viticola* to *Ampelopsis brevipedunculata* and *A. heterophylla* and to reinfect *Vitis vinifera, V. pagnuccii* and *V. rupestris* from them.

2) No differences were detected in the duration of fructification under normal conditions as well as under extreme conditions of temperature.

3) Differences in the occurrence of oospores can probably — in addition to the factors that are provided by the host plant and the environment

— be ascribed to the presence or absence of lines differing in respect of sexual physiology in one population, thus heterothallically conditioned oosporogenesis.

4) Variation-statistical measurements on the sporangia showed no morphological differentiation. It was however possible to demonstrate a considerable modification capacity of the form and size of the sporangia, this too being conditioned by the different host species.

Size and ramification of the sporangiophores proved to be too dependent on environment to be used as differential characters.

5) Mode of germination of the sporangia and duration of swarming were the same in all cultures investigated.

6) Fungicidal preparations based on Zineb, Captan, Phygon, Phaltan and Rhodan-dinitrobenzol proved fully effective against all populations of *Peronospora* investigated. Slight differences in attack were observed with preparations of Ziram, Ferbam, Thiuram and copper oxychloride.

These findings were compared with the results of observations on other species of the *Peronosporaceae*.

Literaturverzeichnis

Angell, H. R., and A. V. Hill, 1932: Downy mildew (blue mould) of tobacco in Australia. Council sci., ind. res. Australia Bull. **65**; zit. nach Yerkes and Shaw, 1959.

Apple, J. L., 1957: Pathogenic, cultural and physiological variation within *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Phytopathology **47**, 733—740.

— —, 1959: Sexuality of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Phytopathology **49**, 37—43.

Arens, K., 1929 a: Untersuchungen über Keimung und Zytologie der Oosporen von *Plasmopara viticola* (Berl. et de Toni). Jb. wiss. Bot. **70**, 57—92.

— —, 1929 b: Physiologische Untersuchungen an *Plasmopara viticola* unter besonderer Berücksichtigung der Infektionsbedingungen. Jb. wiss. Bot. **70**, 93—157.

Ashby, S. F., 1929: Strains and taxonomy of *Phytophthora palmivora* Butler (*P. faberi* Maubl.). Trans. Brit. Mycol. Soc. **14**, 18—38.

Baldacci, E., 1944: zit. nach Baldacci, 1954.

— —, 1954: VII. Congr. int. vigne et vin. Italie, Rapport national. Bull. Off. int. vin **27** (280), 105—125.

de Bary, A., 1863: Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. Ann. sci. nat., Paris, part bot., 4. sér., **20**, 5—148.

Behr, L., 1956: Der Falsche Mehltau am Mohn (*Peronospora arborescens* [Berk.] de By.). Untersuchungen zur Biologie des Erregers. Phytopath. Z. **27**, 289—334.

Berlese, A. N., 1898: Über die Befruchtung und Entwicklung der Oosphäre bei den Peronosporeen. Jb. wiss. Bot. **31**, 159—196.

— —, 1902: Saggio di una monografia delle Peronosporacee. Riv. patol. veget. **10**, 185—298.

— —, J. B. de Toni et E. Fischer, 1888: Sylloge Gasteromycetum, Phycomycetum et Myxomycetum omnium hucusque cognitorum; in Saccardo: Sylloge Fungorum **7**, Patavii.

Billeau, A., si E. Russ, 1925: Boalele vitei-de-vie, fasc. **2**, Boli criptogamice; zit. nach Săvulescu, 1941 b.

Blackwell, E. M., and G. M. Waterhouse, 1931: Spores and spore germination in the genus *Phytophthora*. Trans. Brit. Mycol. Soc. **15**, 294—310.

Börner, C., und F. A. Schilder, 1934: Das Verhalten der Blattreblaus zu den Reben des Naumburger Sortimentes. Mitt. Biol. Reichsanst., H. 49, 17—84.

BOSC, M., 1946: Sur la structure des noyaux et la méiose de *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et de Toni. C. R. Acad. Sci. Paris **223**, 584—585.

BOUBALS, D., 1957: Sur le comportement du mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola* [B. et C.] Berl. et de T.) lors d'inoculations de cultures de tissus de Vitacées. C. R. Acad. Sci. Paris **244**, 1816—1818.

BRANAS, J., 1953: Le mildiou. Bull. Off. int. vin **26** (273), 59—98.

* BREBION, B., 1955: Méthode d'évaluation directe sur feuille de vigne isolée. Phytoma **71**, 7—10.

DE BRUYN, H. L. G., 1937: Heterothallism in *Peronospora parasitica*. Genetica **19**, 553—558.

— —, 1951: Pathogenic differentiation in *Phytophthora infestans*. Phytopath. Z. **18**, 339—359.

BUDDENHAGEN, J. W., 1958: Induced mutations and variability in *Phytophthora cactorum*. Amer. J. Bot. **45**, 355—365.

CAPUS, J., 1916: L'évolution et le traitement du mildiou en 1915. Rev. viticult **44**, 253—255.

CASTRONOVO, A., 1955: Producción de zoosporos binucleados por *Phytophthora infestans*. Rev. Argent. Agron. **22**, 177—183.

CHABROLIN, C., 1931: Le mildiou de la vigne dans ses rapports avec la pluviométrie en Tunisie. Bull. Direct. Gén. Agric., Comm. Colon. Tunis, 1—22.

CHRISTENSEN, C. M., E. C. STAKMAN and J. J. CHRISTENSEN, 1947: Variation in phytopathogenic fungi. Ann. Rev. Microbiol. **1**, 61—84.

CHU, H. T., 1935: Physiologic specialization in *Peronospora Brassicae* Gm. Entomol. et Phytopath., Hangchow **3**, 646—648; zit. nach GUSTAVSSON, 1959 b.

* CIFERRI, R., 1943: Relazione sull'attività del R. Laboratorio Crittogamico e del R. Osservatorio di Fitopatologia di Pavia durante l'anno 1942. Atti Ist. bot. Univ. Pavia (Ser. 5) **1**, 7—83.

CLAYTON, E. E., and J. A. STEVENSON, 1943: *Peronospora tabacina* Adam, the organism causing blue mold (downy mildew) disease of tobacco. Phytopathology **33**, 101—113.

* CONNERS, I. L., and D. B. O. SAVILE, 1944: Twenty-third annual report of the Canadian Plant Disease Survey 1943.

CONSTANTINESCU-ISMAIL, 1932: zit. nach SĂVULESCU, 1941 b, p. 123.

CRITOPOULOS, P. D., 1951: Collar rot of tomato in California caused by *Phytophthora capsici*. Phytopathology **41**, 937.

CROSIER, W., 1933: Culture of *Phytophthora infestans*. Phytopathology **23**, 713—720.

— —, 1934: Studies in the biology of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Cornell Univ. Agr. Exp. Sta., Memoir **155**, 1—40.

* DEIGHTON, F. C., 1938: Mycological work. Rep. Dep. Agric. S. Leone 1937, 45—47.

DUCOMET, V., 1925: *Plasmopara viticola* sur *Ampelopsis Weitchii*. Rev. pathol. végét. **12**, 129—130.

ERIKSSON, J., 1928: Die Pilzkrankheiten der Garten- und Parkgewächse. Stuttgart.

FAES, H., P. TONDUZ et M. STAEHELIN, 1922: La lutte contre le mildiou en 1921. Stat. féd. Lausanne, Pamphlet, 1—14.

FARLOW, W. G., 1882: American grape mildew in Europe. Bot. Gaz. **7**, 30.

* — —, 1883: Enumeration of the *Peronosporeae* of the United States. Bot. Gaz. **8**, 305—315, 327—337.

FISCHER, A., 1892: Phycomycetes. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. **1**, Abt. 4, Leipzig.

FRÉCHOU, M., 1885: Sur un nouveau mode de transmission du Mildew de la vigne. C. R. Acad. Sci. Paris **100**, 396—397.

* FUCKEL, L., 1869/70: Symbolae Mycologicae. Beiträge zur Kenntnis der rheinischen Pilze. Jb. Ver. Naturk. Nassau **23/24**, 1—459.

GALLEGLY, M. E., and J. GALINDO, 1958: Mating types and oospores of *Phytophthora infestans* in nature in Mexico. Phytopathology **48**, 274—277.

GÄUMANN, E., 1918 a: Über die Formen der *Peronospora parasitica* (Pers.) Fries. Beih. Bot. Cbl. **35**, Abt. 1, 395—533.

— —, 1918 b: Über die Spezialisation der *Peronospora* auf einigen Scrophulariaceen. Ann. Mycol. **16**, 189—199.

— —, 1919 a: Zur Kenntnis der Chenopodiaceen bewohnenden *Peronospora*-Arten. Mitt. Naturforsch. Ges. Bern, 1918, 45—66.
— —, 1919 b: Über die Spezialisation der *Peronospora calotheca* de By. Svensk bot. T. **12**, 431—445.
— —, 1923: Beiträge zu einer Monographie der Gattung *Peronospora* Corda. Beitr. zur Kryptogamenflora der Schweiz **5**, 4, 1—360.
— —, 1926: Über die Spezialisierung des falschen Mehltaus (*Peronospora brassicae* Gm.) auf dem Kohl und seinen Verwandten. Landw. Jb. Schweiz. **40**, 463—468.
— —, 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel.
Geeseman, G. E., 1950: Physiologic races of *Peronospora manshurica* on soybeans. Agron. J. **42**, 257—258.
Görnitz, K., 1933: Methoden zur Prüfung von Pflanzenschutzmitteln. IV. Neue Apparate und Methoden. Mitt. Biol. Reichsanst. Berlin-Dahlem, H. 46, 5—59.
Golovina, N. P., 1955: Comparatio speciminum *Plasmopara viticola* Berl. et de Toni e regionibus variis. Bot. mat. J. Acad. Nauk SSSR **10**, 138—144.
Graham, K. M., 1954: Nuclear behavior in *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Phytopathology **44**, 490.
— —, 1955: Distribution of physilogical races of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Canada. Amer. Bot. J. **32**, 277—282.
Grünzel, H., 1957: Studien zur Biologie des Falschen Mehltaues der Weinreben (*Peronospora viticola* de Bary). Diss. Univ. Jena.
— —, 1959: Studien zur Taxonomie und Nomenklatur des Falschen Mehltaues der Weinreben (*Peronospora viticola* de Bary). Zbl. Bakt. II, **112**, 454—472.
Gustavsson, A., 1959 a: Studies on the oospore development in *Peronospora*. Bot. Notiser **112**, 1—16.
— —, 1959 b: Studies on Nordic Peronosporas. Opera bot. **3**, 1, 1—271 und 2, 1—61.
Halsted, B. D., 1889 a: zit. nach Săvulescu, 1941 b, p. 58.
— —, 1889 b: *Peronosporeae* and rain-fall. J. Mycol. **5**, 6—11; zit. nach Gustavsson, 1959 b.
Hammarlund, C., 1931: Kleinere mycologische Notizen. II. Eine Riesenform von *Peronospora brassicae* Gäumann (= *Peronospora parasitica* [Fries] Tulasne) auf *Raphanus sativus* f. *radicula*. Bot. Notiser **84**, 392—393.
Harvey, H. T., 1954: Direct germination of the sporangia of *Phytophthora infestans*. Phytopathology **44**, 492.
Hengl, F., 1942: Gedanken und Erfahrungen bei der *Peronospora*-Bekämpfung in den letzten Jahren. Weinland **14**, 26—29.
Henner, J., 1959: Die *Peronospora*-Krankheit der Rebe. Bundesanst. Pflanzenschutz Wien, Flugblatt 109.
Heymer, Th., 1956: Infektionsversuche mit *Plasmopara viticola* an Trieben und Beerchen der Weinrebe. Weinwissensch. **10**, 20—25.
Hickman, C. J., and M. P. English, 1951: The susceptibility of strawberry varieties to red core. Trans. Brit. Mycol. Soc. **34**, 356—359.
Hiddema, J., and A. P. Kole, 1954: Some observations on zoospore fusion in *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. T. Plantenziekt. **60**, 138—139.
Hoerner, G. R., 1940: The infection capabilities of hop downy mildew. J. agric. res. **61**, 331—334.
Holm, L., 1946: On the variation of the conidia in *Plasmopara umbelliferarum* (Casp.) Schroet. in relation to different hosts. Svensk bot. T. **40**, 55—62.
Howard, H. W., 1953: Physiological races of *Phytophthora infestans*: a comparisation of the differential hosts at the Plant Breeding Institute, Cambridge, with those of the Scottish Society for Research in Plant Breeding. Ann. appl. biol. **40**, 584—593.
Howatt, J. L., and P. N. Grainger, 1955: Some new findings concerning *Phytophthora infestans* (Mont.) de By. Amer. Bot. J. **32**, 180—188.
Husfeld, B., 1933: Über die Züchtung plasmoparawiderstandsfähiger Reben. Gartenbauwiss. **7**, 15—92.
— —, 1943: Gedanken zur Resistenzzüchtung. Züchter **15**, 194—204.

HYRE, R. A., and R. S. COX, 1953: Factors affecting viability and growth of *Phytophthora phaseoli*. Phytopathology **43**, 419—425.

DE ISTVÁNFFI, G., et G. PALINKÁS, 1913: Études sur le mildiou de la vigne. Ann. Inst. centr. ampélog. roy. hongr. **4**, 1—125.

— —, und — —, 1914: Neue Forschungen über die Blattfallkrankheit der Rebe (*Plasmopara viticola*). Intern. agrartechn. Rdsch. **4**, 1470—1474.

* IVANTCHEVA-GABROVSKA, T., 1958: The resistance of tobacco varieties to black shank (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*). Plant Prot. Inst. Sofia, Sci. works **1**, 65—103.

DE JACZEWSKY, A., 1901: Peronosporeen. (Materialien zur Kenntnis der Fauna und Flora des russischen Reiches.) Bot. Abt. H. 4, 1—227; zit. nach SCHWEIZER 1919 und GÄUMANN 1923.

JAGGER, I. C, and N. CHANDLER, 1933: Physiologic forms of *Bremia lactucae* on lettuce. Phytopathology **23**, 18—19.

— —, and T. W. WHITAKER, 1940: The inheritance of immunity from mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce. Phytopathology **30**, 427—433.

* JAKOVLJEVITCH, R., 1955: Trajanje inkubacionog perioda prouzrokovača plamenjače Vinove Loze u Krajinskom vinogorju. Zasht. Bilja, Beograd **27**, 59—63.

JOHNSON, E. M., and W. D. VALLEAU, 1954: Heterothallism in *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Phytopathology **44**, 312—313.

JUNCU, V., 1939: Die neuzeitliche Bekämpfung der *Peronospora*-Krankheit (*Plasmopara viticola*) und des Heu- und Sauerwurms (*Clysia ambiguella, Polychrosis botrana*). 18. Intern. Landw. Kongr. Dresden 1939, Spez.ber. Sekt. 5, 50—55.

KAISER, W., 1955: Zur Frage nach der Resistenz der Kartoffel gegenüber *Phytophthora infestans*. Beitr. Biol. Pflanz. **31**, 293—296.

KONDAREV, M., 1953: Neue Methode zur Bestimmung der Inkubationsperiode der Peronospora (*Plasmopara viticola*). Jb. Landw. Fakult. Plovdiv **5**, 1949/1950. Ernähr. d. Pflanze 1953, 75—91.

KOROTKOVA, P. I., 1954: Sroki apriskivanija vinogradnikov protiv mildiju. Vinod. i. vinograd. SSSR 1954, Nr. 8, 27—30.

KOTTE, W., 1924: Laboratoriumsversuche zur Chemotherapie der Peronosporakrankheit. Zbl. Bakt. II, **61**, 367—378.

KRÜGER, E., 1940: Untersuchungen über den Einfluß von Elektrolyten und Nichtelektrolyten auf die Sporangienkeimung und die Differenzierung der Zoosporen bei *Phytophthora infestans*. Arb. Biol. Reichsanst. Berlin-Dahlem **23**, 51—95.

DE LATTIN, G., 1939: Über den Ursprung und die Verbreitung der Reben. Züchter **11**, 217—225.

LEHMAN, S. G., 1958: Physiologic races of the downy mildew fungus on soybeans in North Carolina. Phytopathology **48**, 83—86.

LEHMANN, H., 1938: Ein weiterer Beitrag zum Problem der physiologischen Spezialisierung von *Phytophthora infestans* de Bary, dem Erreger der Kartoffelkrautfäule. Phytopath. Z. **11**, 121—154.

LEONIAN, L. H., 1927: The effect of different hosts upon the sporangia of some Phytophthoras. Phytopathology **17**, 483—490.

— —, 1931: Heterothallism in Phytophthora. Phytopathology **21**, 941—955.

— —, and H. L. GEER, 1929: Comparative value of the size of *Phytophthora sporangia* obtained under standard conditions. J. agric. res. **39**, 293—311.

LING, L., and M. C. TAI, 1945: On the specialization of *Bremia lactucae* on Compositae. Trans. Brit. Mycol. Soc. **28**, 16—25.

LÜSTNER, G., 1924: Über das Auftreten der *Plasmopara viticola* Berlese et de Toni auf *Ampelopsis Veitchii* im Rheingau. Nachr.Bl. Dtsch. Pfl.schutzd. **4**, 74—75.

MAGNUS, P., 1893: Die Peronosporeen der Provinz Brandenburg. Verh. Bot. Ver. Prov. Brandenburg **35**, 55—87.

MAIER, W., 1941: Keimschlauchbildung bei den Konidien von *Plasmopara viticola*. Wein u. Rebe **23**, 61—64.

Majernik, O., 1955: Príspevok k prognóze peronospóry vínnej révy a k bionómii *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berlese et de Toni. Práce výskumného ústavu pre vinohradníctvo a vinárstvo v Bratislave. Slov. Akad. Vied, Bratislava, 259—302.

— —, und O. Foltyn, 1957: Vplyv niektorých klimatických činitel'ov na rozvoj peronospóry viniča. Biológia (Bratislava) **12**, 421—432.

* Marchionatto, J. B., 1939: Notas micológicas. Physis (Buenos Aires) **15**, 47.

Massee, G., and I. Massee, 1913: Mildews, rusts and smuts: A synopsis of the families *Peronosporaceae, Erysiphaceae, Uredinaceae* and *Ustilaginaceae*. London.

Mastenbroek, C., and Th. de Bruin, 1955: Het voorkomen van physio 4 van *Phytophthora infestans* in Nederland. T. Plantenziekt. **61**, 88—92.

Merschanian, A., 1936: Anatomisches Verfahren der Bestimmung der Widerstandsfähigkeit von Rebblättern gegen die *Peronospora*. Weinland **8**, 33—36 u. 144—147.

Migula, W., 1910: Kryptogamen-Flora von Deutschland, Deutsch-Österreich und der Schweiz, in Thomé: Flora von Deutschland **3**, Teil 1.

* Milissavlyevitch, D., 1949: Ispitivanje dužine inkubacionog perioda *Plasmopara viticola* (B. et C.) Berlese et de Toni. Trav. Inst. Rech. sci. agron. Belgrade **1**, 175—198.

— —, 1950: Recherches sure la durée de la période d'incubation du *Plasmopara viticola*. Progr. agric. vitic. **134**, 298—300.

— —, 1951: Recherches sur la durée de la période d'incubation du *Plasmopara viticola* (B. et C.) Berlese et de Toni. Bull. Off. int. vin. **24** (244), 120—122.

* Montgomerie, I. G., 1956: in Third Ann. Rep. 1955—56, Scot. Horticult. Res. Inst., p. 32.

Morel, G., 1944: Le développement du mildiou sur des tissus de vigne cultivés in vitro. C. R. Acad. Sci. Paris **218**, 50—52.

— —, 1947: Méthode d'essai en serre des produits de lutte contre le mildiou de la vigne. Ann. épiphyt. (N. S.) **13**, 57—66.

— —, 1948: Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. Ann. épiphyt. (N. S.) **14**, 123—234.

Müller, K., und H. Sleumer, 1934: Biologische Untersuchungen über die Peronosporakrankheit des Weinstockes. Landw. Jb. **79**, 509—576.

Müller, K. O., 1932: Bemerkungen zur Frage der „biologischen Spezialisierung" von *Phytophthora infestans*. Angew. Bot. **15**, 84—96.

Müller-Thurgau, H., 1911: Infektion der Weinrebe durch *Plasmopara viticola*. Cbl. Bact. II, **29**, 683—695.

— —, 1924: Das Verhalten von Reben amerikanischer Abstammung gegenüber der Peronospora (*Plasmopara viticola*). Landw. Jb. Schweiz **38**, 608—613.

Muth, F., 1925: Zum Auftreten der *Plasmopara viticola* Berl. et de Toni auf *Ampelopsis Veitchii*. Nachr.Bl. Dtsch. Pfl.schutzd. **5**, 30—31.

Narasimhan, M. J., 1930: Studies in the genus *Phytophthora* in Mysore. I. Heterothallic strains of *Phytophthora*. Phytopathology **20**, 201—214.

Orellana, R. G., 1959: Variation in *Phytophthora palmivora* isolated from cacao and rubber. Phytopathology **49**, 210—213.

Patrigeon, G., 1881: Le Mildiou; zit. nach Gregory, Phytopathology **2**, 235—249, 1912.

Peyronel, B., 1949: Fattori che influiscono sugli attacchi della Peronospora della vite. Ann. Accad. Agric. Torino **91**, 137—154.

Pioth, L. Ch., 1957: Untersuchungen über anatomische und physiologische Eigenschaften resistenter und anfälliger Reben in Beziehung zur Entwicklung von *Plasmopara viticola*. Z. Pflanzenzüchtg. **37**, 127—158.

Pirrota, 1880: zit. nach Farlow, Bot. Gaz. **9**, 37—40, 1884.

* Polsinelli, M., 1957: Risultati di alcuni anni di osservazioni effettuate su un gruppo di 140 vitigni portinnesti. Riv. viticol. enol. **10**, 358—365.

Prillieux, E., 1881: Les spores d'hiver du *Peronospora viticola*. C. R. Acad. Sci. Paris **93**, 752—753.

Prinz, J., 1933: Die Peronospora-Bekämpfung nach den Inkubationszeiten in der Sowjetunion. Weinbau u. Kellerwirtsch. **12**, 188—189.

PROCENKO, A., 1946: Novyj vozbuditel mildju na amurskom vinograde. Vinod. i vinograd. SSSR 1946, nr. 7/8, 30—32.

PROHASZKA, F., 1952: Szölömüvelés és borgazdaság Mezügazdasági, Kiado Budapest; zit. nach MAJERNIK, 1955.

RAVAZ, L., 1930: Le mildiou. Progr. agric. vitic. **93**, 537—538.

— —, 1933: Le mildiou. Progr. agric. vitic. **99**, 173—181.

REED, G. M., 1935: Physiologic specialization of the parasitic fungi. Bot. Rev. **1**, 119—137.

— —, 1946: Physiologic specialization of the parasitic fungi II. Bot. Rev. **12**, 141—164.

RICHARDS, M. C., 1939: Downy mildew of spinach and its control. Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Bull. 718, 1—29.

RIEHM, E., 1928: *Peronosporineae.* In SORAUER, Handb. Pflanzenkrankh. **2**, 1, 368—448. Berlin.

RODRIAN, H., 1956: Ursache der Ertragsausfälle im Weinbau im Jahre 1955. Vortr. 7. rheinhess. Weinbauwoche 1956, Oppenheim, 22—33.

ROEMER, TH., W. H. FUCHS und K. ISENBECK, 1938: Die Züchtung resistenter Rassen der Kulturpflanzen. Berlin.

SAFEEULLA, K. M., and M. J. THIRUMALACHAR, 1956: Periodicity factor in the production of asexual phase in *Sclerospora graminicola* and *Sclerospora sorghi* and the effect of moisture and temperature on the morphology of the sporangiophores. Phytopath. Z. **26**, 41—48.

SANTILLI, V., 1956: Grape downy mildew in California. Summary of Diss., Univ. of California, 1—4.

— —, 1957: A physiologic form of *Plasmopara viticola* found for the first time. Phytopathology **47**, 30.

— —, 1958: Zoospore morphology of the California strain of *Plasmopara viticola.* Nature **181**, 924—925.

* SAREJANNI, J. A., 1951: Quelques problèmes de l'épidémiologie du mildiou de la vigne en Grèce. Ann. Inst. phytopath. Benaki **5**, 53—64.

SĂVULESCU, T., 1938: Nouvelle contribution à la connaissance des Péronosporacées et Ustilaginacées de Roumanie. Bull. Sect. Sci. Acad. Roum. **20**, nr. 7, 1—7.

— —, 1941 a: Die auf Compositen parasitierenden *Plasmopara*-Arten. Bull. Sect. Sci. Acad. Roum. **24**, 45—67.

— —, 1941 b: Mana vitei de vie. Studiu monografic. Acad. Român. Stud. Cerc., Bukarest, 1—213.

— —, et T. RAYSS, 1930: Contribution à la connaissance des Péronosporacées de Roumanie. Ann. Mycol. **28**, 297—320.

— —, et — —, 1932: Nouvelle contribution à la connaissance des Péronosporacées de Roumanie. Ann. Mycol. **30**, 354—385.

— —, et — —, 1934: Troisième contribution à la connaissance des Péronosporacées de Roumanie. Ann. Mycol. **32**, 36—51.

— —, et — —, 1935: Quatrième contribution à la connaissance des Péronosporacées de Roumanie. Ann. Mycol. **33**, 1—21.

— —, si O. SĂVULESCU 1951: Studiul morfologic, biologic si sistematic al genurilor *Sclerospora, Basidiophora, Plasmopara si Peronoplasmopara.* Bul. sti. Acad. Rep. Pop. Rom., Sect. biol., agron. etc. **3**, 3, 327—457.

— —, und L. VÁNKY, 1955/56: Beitrag zur Kenntnis der Peronosporaceen. Arch. Freunde Naturgesch. Mecklenburg **2**, 336—365.

SCHAD, C., 1936: Les stations d'avertissements agricoles et la lutte contre le mildiou de la vigne. Ann. épiphyt. (N. S.) **2**, 283—331.

SCHERZ, W., 1938: Zur Immunitätszüchtung gegen *Plasmopara viticola.* Züchter 10, 299—312.

— —, 1943: Ein Weg zur Züchtung gegen *Plasmopara viticola* resistenter Rebenformen durch Auffinden somatischer Mutanten innerhalb der Spezies *Vitis vinifera.* Züchter **15**, 205—211.

Schick, R., 1932: Über das Verhalten von *Solanum demissum, Solanum tuberosum* und ihren Bastarden gegenüber verschiedenen Herkünften von *Phytophthora infestans*. Züchter **4**, 233—237.

— —, E. Schick und M. Hausdörfer, 1958: Ein Beitrag zur physiologischen Spezialisierung von *Phytophthora infestans*. Phytopath. Z. **31**, 225—236.

Schilder, F. A., 1946: Die Zahl der Staubfäden der Weinrebe. Züchter **17/18**, 374—377.

Schroeter, J., 1886: Peronosporacei, in: Die Pilze Schlesiens I, 228—252; in Cohn: Kryptogamenflora von Schlesien **3**, Breslau 1889.

Schultz, H., 1942: Arbeitsmethoden bei Kultur- und Infektionsversuchen mit *Pythium*-Arten. Zbl. Bakt. II, **105**, 248—254.

— —, und K. Röder, 1938: Die Anfälligkeit verschiedener Varietäten und Sorten von Salat (*Lactuca sativa* L. und *Lactuca scariola* L.) gegen den Falschen Meltau (*Bremia lactucae* Regel). Züchter **10**, 185—194.

Schweizer, J., 1917: Die Spezialisation von *Bremia Lactucae* Regel. Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. Zürich II, 224.

— —, 1919: Die kleinen Arten bei *Bremia Lactucae* Regel und ihre Abhängigkeit von Milieueinflüssen. Verh. Thurg. Naturforsch. Ges. **23**, Frauenfeld; Diss. Univ. Bern.

Schwinn, F. J., 1959: Untersuchungen zur Systematik der Gattung *Phytophthora* de Bary. Arch. Miokrobiol. **33**, 223—252.

Scott, D. H., W. F. Jeffers, G. M. Darrow and D. P. Ink, 1951: Further studies on the response of strawberry varieties and selections to strains of the red stele root disease fungus. Plant Dis. Reptr. **35**, 134—145.

Scribner, F. L., 1886: The downy mildew. U. S. Dept. Agric., Bot. Div., Bull. **2**, 10—15; zit. nach Melhus, Wisconsin Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 15, 25—91, 1911.

Seeliger, R., 1924: Über einige bisherige Erfahrungen und Ergebnisse der Rebenzüchtung. Weinbau u. Kellerwirtsch. **3**, 187—192.

— —, 1925: Vererbungs- und Kreuzungsversuche mit der Weinrebe. Z. indukt. Abstammungsl. **39**, 31—163.

* Simonet, J., 1925: Notes de pathologie végétale. J. Soc. Nat. Hort. France, Sér. 4, **26**, 442—452.

Smoot, J. J., F. J. Gough, H. A. Lamey, J. J. Eichenmuller and M. E. Gallegly, 1958: Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans*. Phytopathology **48**, 165—171.

Staudermann, W., 1937 a: Methodisches zur Prüfung von Mitteln über ihre Peronosporawirkung. Nachr. Schädl.bekämpf. **12**, 205—217.

— —, 1937 b: Methode zur Prüfung von Peronosporamitteln im Gewächshaus. Mitt. Biol. Reichsanst. Berlin-Dahlem, H. 55, 43—54.

Suessenguth, K., 1953: *Vitaceae*; in Engler, A., und K. Prantl: Die natürlichen Pflanzenfamilien, Bd. **20 d**, 174—371. Berlin.

Taylor, C. F., F. Carlton, J. J. Smoot, D. O. Quinn, R. A. Rohde and E. S. Elliott, 1954: Effect of brief exposures at 40 °C on germination of sporangia of *Phytophthora infestans*. Phytopathology **44**, 508.

— —, J. J. Smoot, D. O. Quinn, R. A. Rohde and E. S. Elliott, 1955: Effect of brief exposures at 40 °C on germination of sporangia of *Phytophthora infestans*. Phytopathology **45**, 673—675.

Teschner, G., 1955: Einfache Laboratoriumsteste als Beitrag zur fungiziden Mittelprüfung. Nachr.Bl. Dtsch. Pfl.schutzd. (Braunschweig) **7**, 170—174.

Thung, T. H., 1926: Opmerkingen over *Peronospora parasitica* op kool. T. Plantenziekt. **32**, 161—179.

Togashi, K., and Y. Shibasaki, 1934: Biometrical and biological studies of *Albugo candida* (Pers.) O. Kuntze in connection with its specialisation. Imp. Coll. Agr. For. Marioka, Bull. **18**, 1—88; zit. nach Reed, 1935.

Toxopeus, H. J., 1956: Reflections on the origin of new physiologic races of *Phytophthora infestans* and the breeding for resistance in potatoes. Euphytica **5**, 221—237.

Uppal, B. N., and M. K. Desai, 1932: Physiologic specialization in *Sclerospora graminicola* (Sacc.) Schroet. Indian J. agric. sci. **2**, 667—678; zit. nach Reed, 1946.

— —, and W. H. Weston, 1936: The basis for merging *Sclerospora indica* with *Scl. philippinensis*. Indian J. agric sci. **6**, 715—719; zit. nach Yerkes und Shaw, 1959.

Vanterpool, T. C., 1939: Homothallism in *Pythium*. Mycologia **31**, 124—127.

Venkatarayan, S. V., 1932: *Phytophthora arecae*, parasitic on Areca tops, and a strain of *P. palmivora* Butl. (*P. faberi* Maubl.) on a new host, Aleurites fordi. Phytopathology **22**, 217—227.

* — —, 1956: Report of the work done in the plant pathology section during the year ended March 1952. Rep. Dep. Agric. Mysore, part II, 1951—52, p. 153—158.

Viala, P., 1887: Mildiou, in: Maladies de la vigne. Montpellier-Paris, 2 Aufl., 85—244.

— —, 1893: Mildiou, in: Maladies de la vigne. Montpellier-Paris, 3. Aufl., 75—155.

— —, et F. Péchoutre, 1910: Espèces, in: Viala P., et V. Vermorel, Ampélographie **1**, 299—449. Paris.

Viennot-Bourgin, G., 1949: Les champignons parasites des plantes cultivées, Bd. **1**, Paris.

— —, 1956: Mildious, oidiums, caries, charbons, rouilles des plantes de France. Encyclop. Mycol. **26**, p. 294.

Vivet, E., 1940: Échelonnement des traitements contre le mildiou. Rev. viticult. **92**, 176—177.

Wang, C. M., 1944: Physiological specialization in *Peronospora parasitica* and reaction of hosts. Chin. J. sci. agric. **1**, 249—257; zit. nach Yerkes und Shaw, 1959.

Wartenweiler, A., 1917: Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Plasmopara*. Ann. Mycol. **15**, 495—497.

— —, 1918 a: Zur Biologie der Gattung *Plasmopara*. Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. Zürich, II, 223—224.

— —, 1918 b: Beiträge zur Systematik und Biologie einiger *Plasmopara*-Arten. Ann. Mycol. **16**, 249—299.

Wester, R. E., and H. Jorgensen, 1959: A new race of *Phytophthora phaseoli* from Lima Beans. Plant Dis. Reptr. **43**, 184—186.

Wilson, G W., 1907: Studies in North American Peronosporales. II. *Phytophthoreae* and *Rhysotheceae*. Bull. Torrey Bot. Club **34**, 387—416.

Wortmann, J., 1919: Untersuchungen über *Peronospora viticola*. Wein u. Rebe **1**, 99—144, 277—315, 360—376, 419—439, 498—506 u. 545—555.

Yerkes, W. D., and Ch. G. Shaw, 1959: Taxonomy of the *Peronospora* species on *Cruciferae* and *Chenopodiaceae*. Phytopathology **49**, 499—507.

Zillig, H., 1936: Die Rebschule. Wein u. Rebe **17**, 332—338.

— —, und L. Niemeyer, 1937: Methode zur Prüfung von Peronospora-Bekämpfungsmitteln im Freiland unter Verwendung künstlicher Infektion. Mitt. Biol. Reichsanst. Berlin-Dahlem, H. 55, 39—41.

Zimmermann, O. E. R., 1887: Die Peronospora-Krankheit des Weinstockes, le mildiou ou le faux Oidium américain, the American grapevine Mildew. Cbl. Bact. **2**, 57—71.

Zink, F. W., and P. G. Smith, 1958: A second physiologic race of spinach downy mildew. Plant Dis. Reptr. **42**, 818.

Zschokke, A., 1906: Über Erfahrungen bei der Peronospora-Bekämpfung. Mitt. Deutsch. Weinbau-Ver. **1**, 133—145.

— —, 1924: Zum Auftreten von *Plasmopara* (*Peronospora*) *viticola* auf *Ampelopsis Veitchii*. Nachr.Bl. Dtsch. Pfl.schutzd. **4**, 92—93.

Zweigelt, F., 1934: Erfolge und Mißerfolge in der Peronospora-Bekämpfung — natürliche Widerstandskraft und Wasserstoffionenkonzentration im Rebblatt. Weinland **6**, 262—265, 298—300.

* Die Arbeit war nur im Referat zugänglich.

Besprechungen

Horsfall, J. G. and A. E. Dimond. Plant Pathology. An Advanced Treatise. Vol. I. The Diseased Plant. Academic Press, New York und London 1959. XIV, 674 Seiten. Preis 22 $.

Wie die Herausgeber in der Einleitung feststellen, soll dieses Werk eine zusammenfassende Darstellung des Gesamtgebietes der Pflanzenpathologie geben und sich nicht mit der Besprechung von Krankheiten der Kulturpflanzen befassen. Es behandelt daher das Wesen des Krankseins und die dabei auftauchenden Probleme und nicht die einzelnen Krankheiten an sich. Es ist als ein Handbuch für Wissenschaftler gedacht und nicht als Lehrbuch für Studenten.

Der hier zu besprechende erste Band, in dem die kranke Pflanze im Mittelpunkt der Betrachtungen steht (die beiden weiteren vorgesehenen Bände werden die Überschriften tragen: „The Pathogen" und „The Diseased Population"), umfaßt 15 Kapitel, die von 19 als Spezialisten auf den von ihnen bearbeiteten Teilgebieten geltenden Wissenschaftlern aus den USA, aus Japan, Indien und Europa bearbeitet worden sind.

Horsfall und Dimond führen in das Problem „Kranke Pflanze" ein, indem sie Fragen diskutieren wie: „Was ist Pflanzenpathologie?", „Was ist Krankheit?" usw. Überblicke über die Bedeutung und Stellung der Pflanzenpathologie im Rahmen der Naturwissenschaften, ihre Beziehungen zur menschlichen Gesellschaft sowie die geschichtliche Entwicklung dieses Forschungsgebietes werden von J. G. ten Houten und G. W. Keitt gegeben. In dem folgenden Abschnitt erörtert K. Starr Chester die verschiedenen Gesichtspunkte, die für die Beantwortung der Frage: „Wie krank ist die Pflanze?" zu berücksichtigen sind. Es schließen sich sechs Kapitel an, in denen die verschiedenen Möglichkeiten, wie sich eine Erkrankung äußern kann, besprochen werden, nämlich Veränderungen des Gewebes, Beeinflussung des Wachstums und der Reproduktion, „Verhungern", Wassermangel und Veränderungen des Respirationsmechanismus. Andere wesentliche Erscheinungen bei pathologischen Prozessen werden in gesonderten Abschnitten über Histologie, Physiologie und Biochemie der Abwehrreaktionen, Hypersensibilität und Prädisposition der Pflanze erörtert. Im letzten Kapitel geben F. L. Howard und J. G. Horsfall einen Überblick über die physikalischen und chemischen Bekämpfungsmöglichkeiten. Sie gehen dabei näher auf die in manchen Beziehungen gegensätzlichen Aspekte einer lokalen und systemischen Chemotherapie ein.

Jedes Kapitel schließt mit einer Übersicht über die vielen im Text zitierten Literaturstellen. Am Ende des Bandes finden sich ein Register aller Autoren mit Hinweisen auf die jeweilige Seite, auf der sie genannt werden, sowie ein für ein so vielseitiges Werk unbedingt erforderliches Sachregister, das hier erfreulicherweise sehr weit aufgegliedert ist und 50 Seiten umfaßt.

Den Herausgebern und ihren Mitarbeitern muß bescheinigt werden, daß es ihnen gelungen ist, ein in dieser Form und in dieser Ausführlichkeit bisher in der phytopathologischen Literatur noch nicht vorhandenes Werk zu schaffen, dem auf Grund seines hohen Niveaus die internationale Anerkennung nicht versagt bleiben wird. Sicherlich würde dieser erste Band durch eine straffere Gliederung, durch die Überschneidungen und Wiederholungen vermieden werden könnten, sowie durch eine einheitlichere und stellenweise auch übersichtlichere Darstellung in den einzelnen Kapiteln noch mehr zu einem Ganzen werden. Durch seine objektive und doch kritische und dem derzeitigen Forschungsstand entsprechende Darlegung der bei dem Problem „Kranke Pflanze" auftretenden Gesichtspunkte, Vorgänge

und Zusammenhänge wird das Werk zu einer festen Grundlage, durch die Vielzahl angeschnittener Fragen zugleich aber auch richtungweisend für weitere Forschungen.

GERLACH, Berlin-Dahlem

Linser, H. und K. Kaindl. Isotope in der Landwirtschaft. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin 1960. 422 Seiten, 214 Abbildungen, 105 Tabellen. Ganzleinen DM 86,—.

Keine Entdeckung dieses Jahrhunderts hat der naturwissenschaftlichen Forschung so viele neue Erkenntnisse gebracht wie die der Kernspaltung und der Kernumwandlung. Die Tatsache, daß von den verschiedensten Elementen Isotope gewonnen werden können, gibt gerade den angewandten naturwissenschaftlichen Disziplinen bisher ungeahnte Möglichkeiten der experimentellen Forschung. So ist es nicht verwunderlich, daß in den letzten zehn Jahren auch in Deutschland eine große Anzahl von Arbeiten mit Isotopen durchgeführt wurde. Keine Arbeitsmethodik ist aber so im Fluß wie die der Isotopentechnik! Es muß daher als sehr mutig bezeichnet werden, daß die Autoren sich daran machten und speziell für die Landwirtschaft die Grundlagen der Isotopenforschung, die experimentelle Anwendung der Isotopen und die bisherigen Ergebnisse auf allen Gebieten der landwirtschaftlichen Forschung zusammenstellten.

Einleitend bringt das Buch die theoretischen Grundlagen der Kernphysik in gedrängter Form und weist auch auf die Schwierigkeiten der Isotopenanwendung hin. Dieser Abschnitt kann allerdings die speziellen kernphysikalischen Abhandlungen nicht ersetzen, gibt aber dem schnellen Leser in leichtverständlicher Form einen Überblick.

Der Hauptteil des Buches enthält in etwa zehn klar gegliederten Abschnitten alles, was der Isotopentechniker für seine experimentellen Arbeiten wissen muß. Laboreinrichtung, Strahlenschutz, Meßtechnik und Auswertung, Autoradiographie und Markierung von Verbindungen, auch von Dünge- und Pflanzenschutzmitteln, werden ebenso abgehandelt wie die Massenspektrometrie. Diese Abschnitte, von einem Forscher geschrieben, der selbst ein Isotopenlaboratorium leitet (K. KAINDL), bringen erstmalig die Erfahrungen, die inzwischen bei der Isotopenanwendung gesammelt wurden. Gerade die vielen kleinen Anleitungen, wie das Präparieren von Proben für die Autographie oder die Messung, ersparen eigenes Experimentieren.

Die letzten drei Abschnitte des Werkes sind eine „Bestandsaufnahme" über die bisher mit Isotopen durchgeführten Arbeiten in der landwirtschaftlichen Forschung, über die Anwendung radioaktiver Isotope in der landwirtschaftlichen Praxis, über radioaktive Verseuchung und die natürliche Radioaktivität im landwirtschaftlichen Betrieb. Viele Anregungen über mögliche Anwendungen von Isotopen sind dort eingeflochten, wo es bisher an Arbeiten fehlt.

Etwa 30 Seiten sind dem Pflanzenschutz und der Unkrautbekämpfung gewidmet. In anschaulicher Weise ist dieser Zusammenstellung zu entnehmen, wie Isotope entweder zur Markierung von Insektiziden, Fungiziden, Herbiziden usw. bzw. radioaktive Strahlen bisher angewandt wurden und welche Ergebnisse zu verzeichnen sind. Auch bei Arbeiten mit Nematoden, Viren, Pilzen, Insekten und sonstigen Schädlingen waren Isotope Hilfsmittel, wie die aufgeführten Beispiele zeigen. Ein besonderer Abschnitt ist der Sterilisation und der Abtötung von Insekten mittels Strahlen im Pflanzen- und Vorratsschutz gewidmet.

Die Literaturzusammenstellung des Werkes nennt etwa 1400 Arbeiten, deren wichtigste mit Isotopen gewonnenen Ergebnisse kurz im Text wiedergegeben sind. Eine solche umfangreiche Übersicht von der Tierernährung, -haltung und -züchtung über Bodenkunde, Pflanzenernährung und -züchtung bis zum Pflanzenschutz und der Lebensmittelkonservierung kann in einem solchen Rahmen naturgemäß nicht alle Einzelheiten bringen und ersetzt nicht das Studium der speziellen Veröffentlichungen. Trotzdem ist das Werk eine beachtliche Zusammenstellung, die vor allem dem nicht mit Isotopen arbeitenden Leser viel Neues bringt.

Besonders erwähnt sei noch, daß zur Bearbeitung einiger Abschnitte Fachwissenschaftler herangezogen wurden. So stammt z. B. der Abschnitt zum Virusproblem von L. SVERAK.

A. KLOKE, Berlin-Dahlem

Die Waldkrankheiten

Ein Lehrbuch der Forstpathologie und des Forstschutzes

Von Prof. Dr. F. Schwerdtfeger, Göttingen

2., neubearbeitete Auflage. 1957. 486 Seiten mit 199 Abbildungen
Ganzleinen DM 39,40

„Prof. Schwerdtfeger hat uns ein Buch vorgelegt, in dem er den in seiner Harmonie gestörten Wald nicht allein vom Schaden oder Schädling und deren Folgen abgeleitet wissen will, sondern auch von der biologischen und wirtschaftlichen Einheit des Waldes, also vom Bestand her. Das Inhaltsverzeichnis umfaßt demzufolge die Hauptabschnitte: Grundlagen der Forstpathologie, z. B. der Wald als Lebensgemeinschaft, das biozönotische Gleichgewicht; Abiotisch bedingte Krankheiten, z. B. Feuerschäden, Rauchschäden, durch Wettererscheinungen bedingte Krankheiten, durch Bodeneigenschaften bedingte Krankheiten; Biotisch bedingte Krankheiten, z. B. pathozöne Organismen (Viren, Bakterien, Pilze, Flechten, Unkräuter, Würmer, Spinnen, Insekten, Schnecken, Wirbeltiere); Massenentwicklung der pathogenen Organismen; Disposition und Resistenz; Krankheitsverlauf; Wirtschaftliche Auswirkungen; Verhütung und Bekämpfung; Waldtherapie. Das Buch ist also eine Gesamtdarstellung der Lehre vom kranken Wald und wendet sich in erster Linie an den Forstwissenschaftler, ist aber gleichzeitig für den praktischen Forstmann ein unentbehrliches Handbuch. — Herausgeber und Verleger sei für diese vorzügliche Arbeit gedankt." *Gesunde Pflanzen*

Eine wesentliche Hilfe bei der Auswertung fremdsprachiger Literatur
leistet das Spezialwörterbuch:

Vocabularium polyglottum vitae silvarum

Waldbiologisches Fachwörterbuch
auf der Grundlage der wissenschaftlichen Nomenklatur
Latein — Deutsch — Französisch — Englisch — Spanisch — Russisch

von Risa von Litschauer
1955. 126 Seiten. Ganzleinen DM 24,—

„Das erstklassig ausgestattete Buch will einem internationalen Leserkreis von Forstbiologen, d. h. Forstzoologen, Mykologen, Ornithologen, Botanikern und Entomologen, bei der Durchsicht vielsprachiger Literatur helfen und die Leser außerdem instand setzen, auch ihrerseits Arbeiten in mehreren Sprachen veröffentlichen zu können ... Für die genannten Fachgebiete füllt das Buch eine schmerzlich empfundene Lücke aus ... Das Werk kann daher nur auf das allerwärmste begrüßt werden. Es wird nicht verfehlen, seinen entscheidenden Beitrag zur Koordinierung der weltweiten Wissenschaftsgebiete zu leisten."
Zeitschrift für Weltforstwirtschaft

„Forstleuten und Waldbiologen, die sich mit dem Studium fremdsprachiger Schriften beschäftigen, wird das neue Fachwörterbuch ein unentbehrlicher Behelf sein, dessen Anschaffung nur empfohlen werden kann." *Österreich. Vierteljahresschrift für Forstwesen*

VERLAG PAUL PAREY / HAMBURG UND BERLIN

Wir liefern aus:

Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur 1953

Bearbeitet von Reg.-Rat Dr. J. BÄRNER

Herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem

1960. 569 Seiten. Broschiert DM 72,—

Der vorliegende Band verzeichnet die internationale Pflanzenschutzliteratur des Jahres 1953. Aufgeführt sind 15 000 Titel. Die Anordnung ist systematisch. Titel, Einleitungen, Kapitelüberschriften sind in deutscher, englischer und französischer Sprache wiedergegeben.

Über früher erschienene Bände erteilen wir auf Anfrage genaue Auskunft.

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem

1959/60 erschienen folgende Hefte:

Heft 95 **Zur Toxikologie der Insektizide**
Literaturübersicht 1. Teil: Diën-Gruppe
Von Dr. P. STEINER und Dr. W. GRUCH
1959. 118 Seiten mit 42 Tabellen. Kartoniert DM 9,70

Heft 96 **Biologische Untersuchungen über die Entwicklung von *Hylotrupes bajulus* L. (Hausbockkäfer)**
Von Dr. A. KÖRTING
1959. 35 Seiten mit 7 Abbildungen und 15 Tabellen. Kartoniert DM 3,60

Heft 97 **32. Deutsche Pflanzenschutz-Tagung** der Biologischen Bundesanstalt in Hannover, 6. bis 10. Oktober 1958
1959. 262 Seiten mit 79 Abbildungen und 4 Kunstdrucktafeln. Kart. DM 12,80

Heft 98 **Die Krankheiten der Weide und deren Erreger**
Von Dr. H. BUTIN
1960. 46 Seiten mit 27 Abbildungen. Kartoniert DM 5,40

Heft 99 **Hackfruchtkrankheiten und Nematodenforschung**
Festschrift anläßlich der Einweihung des Neubaues für das Institut für Hackfruchtkrankheiten und Nematodenforschung der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Münster (Westf.)
1960. 119 Seiten, 27 Abbildungen und 5 Tafeln. Kartoniert DM 13,50

Weitere Hefte dieser Schriftenreihe erscheinen in zwangloser Folge. Die Hefte 1 bis 94 sind zum Teil noch lieferbar. Auf Anfrage erteilen wir genaue Auskünfte.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG